

DIE LINEARE UND NICHTLINEARE ANALYSE
BIOLOGISCHER SEHSYSTEME MIT EINFACHEN
SINUSREIZEN UND FOURIER-INTERFEROMETRISCHER
STIMULATION (FIS)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des
Doktorgrades
der Fakultät für Biologie der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
ANDREAS STEINER
aus Sonneberg / Thüringen

Juli 1985

Die lineare und nichtlineare Analyse
biologischer Sehsysteme mit einfachen Sinusreizen
und Fourier-Interferometrischer Stimulation (FIS)

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Biologie der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Andreas Steiner
aus Sonneberg/Thüringen

Juli 1984

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. R. Gemperlein

2. Berichterstatter: Prof. Dr. U. Smola

Tag der mündlichen Prüfung: 8.2.1985

Inhaltsverzeichnis

(Der Beginn der Kapitelzusammenfassungen ist in Klammern angegeben)

	Seite
Zusammenfassung	
1. Einleitung	1
2. Einzelsinusreize am Modellsystem	
2.0 Einführung	4
2.1 Definition des Begriffes "Kennlinie"	4
2.2 Das Halbleiter-Photoelement; ein Modell für Kennlinien-Einflüsse	6
2.3 Bestimmung der Kennlinie mit Rechteckreizen und modulierten Reizen; Zusammenhang zwischen diesen beiden Kennlinienfunktionen (29)	14
2.4 Näherung eines Kennlinienstückes durch die Taylor- Reihe; Einfluß ihrer Glieder auf den Reiz-Antwort- Zusammenhang (38)	30
2.5 Die Reiz-Antwort-Beziehung in Abhängigkeit von der Kennlinienform; experimentelle Befunde	40
2.6 Zusammenfassung: Einzelsinusreize am Modellsystem	45
3. Komplexer Sinusreiz am Modellsystem	
3.0 Einführung	47
3.1 Wechselwirkung zweier Sinusreize im Fall einer nichtlinearen Kennlinie (52)	47
3.2 Einfluß einer nichtlinearen Kennlinie auf einen komplexen Sinusreiz (60)	53
3.3 Komplexer Sinusreiz an einer quadratischen Kenn- linie; quantitative Untersuchung der Nichtline- aritäten (65)	60

3.4	Einfluß der Phase beim komplexen Sinusreiz; Vergleich zwischen berechnetem und Fourier-analytisch gewonnenem Ergebnis (74)	66
3.5	Abschätzung des Einflusses kubischer Nichtlinearitäten auf die lineare Antwort (80)	75
3.6	Zusammenfassung: Komplexer Sinusreiz am Modellsystem	81
4.	FIS-Untersuchung am Modellsystem	
4.0	Einführung	83
4.1	Die FIS-Methode; ein dynamisches aktionsspektrometrisches Verfahren zur Bestimmung der spektralen Empfindlichkeit (SE) (91)	84
4.2	FIS-Versuchsaufbau und Meßapparatur	92
4.3	Einfluß von Nichtlinearitäten auf die FIS-Methode; experimentelle Untersuchung am Modellsystem (113)	104
4.4	Prinzipien der Entzerrung einer verzerrten FIS-Antwort (120)	113
4.5	Phase und Nichtlinearität bei einer quadratisch verzerrten FIS-Messung (132)	121
4.6	Zusammenfassung: FIS-Untersuchung am Modellsystem	133
5.	Einzel sinusreiz an biologischen Objekten	
5.0	Einführung	135
5.1	Biologisches Material, Ableitmethode und Versuchsparameter	136
5.2	Die Kennlinien der untersuchten biologischen Objekte (160)	142
5.3	Die Modulationsgrad-Abhängigkeit der biologischen Systemantwort (170)	161
5.4	Die mögliche Bedeutung der physiologischen Linearisierung für ein biologisches Sehsystem (177)	171

	Seite
5.5 Modell-Betrachtungen zu den Kennlinien (189)	178
5.6 Die Phasenlagen der Antwort-Anteile beim dynamischen Rezeptor	190
5.7 Zusammenfassung: Einzelsinusreiz an biologischen Objekten	195
6. FIS-Untersuchungen an biologischen Objekten	
6.0 Einführung	198
6.1 Die Bestimmung der SE bei biologischen Objekten durch FIS und durch herkömmliche Methoden (207)	200
6.2 FIS-Untersuchungen zur SE der Schmetterlinge <i>Aglais urticae</i> und <i>Pararge aegeria</i> ; Methoden zur Analyse der Summenempfindlichkeit (215)	208
6.3 Die möglichen Ursachen für eine Abweichung zwischen experimentell ermittelter und synthetisierter SE-Kurve (222)	216
6.4 FIS-Untersuchungen zur SE bei <i>Pieris brassicae</i> ; die Abhängigkeit von Ableitort und -tiefe (231)	223
6.5 FIS-Untersuchungen zur SE bei <i>Pieris brassicae</i> ; chromatische Adaptationsexperimente (241)	232
6.6 FIS-Untersuchungen zur SE bei <i>Pieris brassicae</i> ; Diskussion und Vergleich mit anderen Ergebnissen (248)	241
6.7 Die nichtlineare Reaktion; ihre Auswertung am Beispiel von <i>Pieris brassicae</i> und <i>Pararge aegeria</i> (256)	250
6.8 Die FIS-Analyse von Nichtlinearität und Phase bei <i>Calliphora erythrocephala</i> (265)	257
6.9 Die FIS-Analyse von Nichtlinearität und Phase beim Menschen	267
6.10 Zusammenfassung: FIS-Untersuchungen an biologischen Objekten	274

7.	Nachwort	277
8.	Literaturverzeichnis	279
9.	Anhang: Legende der wichtigsten Abkürzungen und Bezeichnungen	287

Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden Untersuchungen mit einfachen Sinusreizen und Fourier-Interferometrischer-Stimulation (FIS) an Modellsystemen und biologischen Objekten durchgeführt. Dabei ergeben sich folgende Resultate:

1) Die Methode FIS beruht auf einer Fourierzerlegung der Systemreaktion. Dieses lineare Analyse-Verfahren kann unter bestimmten Bedingungen auch auf ein nichtlineares System angewendet werden. Dazu darf a) die Nichtlinearität nur quadratische Oberwellen erzeugen, und muß b) das zu analysierende Frequenzband auf eine Oktave beschränkt bleiben. Beide Forderungen können prinzipiell immer durch Modulationsgrad-Erniedrigung und spektrale Reizeinengung erfüllt werden.

2) Abweichend von einem vermuteten logarithmischen Zusammenhang bleibt bei den biologischen Untersuchungsobjekten die Reiz-Antwort-Beziehung für den FIS-Stimulus weitestgehend auf quadratische Nichtlinearitäten beschränkt. Das absorbierte Spektralband des polychromatischen FIS-Reizes liegt im allgemeinen innerhalb einer Oktave. Die FIS-Methode ist somit ohne Einschränkung anwendbar.

3) Die durch FIS aus ERG-Ableitungen elektrophysiologisch ermittelten spektralen Empfindlichkeiten verschiedener Schmetterlinge zeichnen sich durch eine hohe Güte und Reproduzierbarkeit aus. Sie lassen sich deshalb gut durch die Summation von Empfindlichkeitskurven annähern, wie sie für verschiedene Rhodopsine gelten. Insbesondere sind im Rahmen der Meßgenauigkeit keine Rezeptor-Eigenschaften (Metarhodopsin-Abschirmung, Lichtleiter-Effekte usw.) feststellbar, die die gemessenen Spektralkurven modifizieren.

4) Die Näherung der Summen-Empfindlichkeit durch Einzel-Pigmente wird durch chromatische Adaptationsexperimente bestätigt. Sie führen selektiv zu einer Verminderung in einem bestimmten Spektralbereich der Empfindlichkeitskurve. Die Abweichungen können durch eine quantitative Änderung der Näherungsbeiträge erklärt werden.

5) Die spektrale Empfindlichkeit des Kohlweißlings bei ERG-Untersuchungen bringt in Abhängigkeit von der Augenregion und der Ableittiefe unterschiedliche Ergebnisse. Die Tiefenabhängigkeit kann durch eine quantitative Verschiebung der Näherungsbeiträge gedeutet werden. Für die Näherung der im dorsalen Augenbereich auftretenden Spektralreaktion werden drei Rhodopsin-ähnliche Absorptionskurven benötigt. In der medio-ventralen Region ist zusätzlich noch ein aktionsspektrometrisch wirksamer Rotanteil feststellbar, der nicht durch ein Rhodopsin-Pigment allein erklärbar ist.

6) Die Befunde können in Einklang mit den Ergebnissen anderer Autoren gebracht werden. Die Tiefenabhängigkeit und die regionale Unterschiedlichkeit sind durch histologische Strukturen deutbar. Die durch chromatische Adaptation und Näherung ermittelten spektral unterschiedlichen Rezeptorstrukturen decken sich mit den Resultaten von Verhaltensexperimenten.

7) Die nichtlineare Reaktion und der Phasengang, die ebenfalls bei FIS-Untersuchungen gewonnen werden, können zur weiteren Systemanalyse dienen. Im Fall der Schmetterlinge führt ihre Auswertung auf eine zweifelsfreie Bestätigung der vermuteten Rezeptorstrukturen. Im Fall der Schmeißfliege zeigen sie, daß die bisherigen Hypothesen zur Erklärung der Fliegen-Empfindlichkeit neu überdacht werden müssen.

8) Die mit der FIS-Methode durchgeführten Human-Untersuchungen zur spektralen Empfindlichkeit bringen Ergebnisse, die analytisch nur

schwer zu deuten sind. Eine Weiterführung der Analyse wird erst durch die Auswertung von Nichtlinearität und Phase ermöglicht. Diese Untersuchungen führen zu Ergebnissen, die zukünftig auch klinisch relevant werden könnten.

1. Einleitung

Im Bereich der Sinnesphysiologie nimmt die Untersuchung des visuellen Systems einen breiten Raum ein. Dies liegt zum einen wohl an der einfachen und exakten Handhabungs- und Beschreibungsmöglichkeit von Lichtreizen. Zum anderen besteht auch ein besonderes Interesse des Experimentators "Mensch": Für die meisten Menschen ist Sehen gefühlsmäßig die wichtigste aller Sinnesleistungen. Sie umfaßt die Wahrnehmung von Form, Bewegung und Farbe.

Im Vergleich mit anderen untersuchten Säugetieren spielen bei diesen oftmals akustische und olfaktorische Empfindungen die Hauptrolle der Sinneswahrnehmung. Es gibt aber auch dort ausgeprägte Teilleistungen hinsichtlich Form- und Bewegungswahrnehmung (stereoskopisches Abschätzen bei Raubtieren, Empfindlichkeitsschwelle bei Nachttieren, usw.), die die Leistungsfähigkeit des menschlichen Auges übertreffen.

Im Bereich der Farbwahrnehmung jedoch scheinen neben Primaten vor allem Insektenarten hervorragende Leistungen zu vollbringen. Zur Klärung der Mechanismen des Farbsehens können deshalb Untersuchungen des visuellen Systems der Insekten hilfreich und nützlich sein.

Das zoologische Institut der Universität München hat in der Untersuchung der Farbwahrnehmung bei Wirbellosen eine große Tradition. K. von Frisch konnte 1914 durch Dressurversuche nachweisen, daß Bienen Farben unterscheiden können. Im Jahre 1962 gelang es H. Autrum und V. von Zwehl erstmals, im Bienenauge elektrophysiologisch einzelne Rezeptorzellen zu untersuchen und deren Spektralcharakteristik zu bestimmen.

Die spektrale Empfindlichkeit (SE) der Photorezeptoren beschreibt den maximal möglichen Bereich der Farbwahrnehmung und Farbleistung eines visuellen Systems. Sie bildet somit die Grundlage für das Verständnis einer Farbverarbeitung im biologischen Objekt.

Die elektrophysiologische Bestimmung der SE geschieht bisher hauptsächlich mittels Lichtblitze bestimmter Quantität (Intensi-

tät) und Qualität (Farbe). In den letzten Jahren wurde jedoch nach einer Idee von R. Gemperlein unter dessen Leitung eine neue Methode zur Bestimmung der SE entwickelt, die die herkömmlichen Verfahren in vielen Bereichen an Leistungsfähigkeit übertrifft. Diese Methode der Fourier-Interferometrischen Stimulation (FIS) verwendet anstelle von Lichtblitzen sinusförmig modulierte Reize verschiedener Frequenz und unterschiedlichen Spektralgehalts, die gleichzeitig das Untersuchungsobjekt stimulieren. FIS wurde bisher mit Erfolg zur Bestimmung der SE von Dipteren, Hymenopteren, Choleopteren, Lepidopteren, Rodentiden und beim Menschen angewandt.

Bei der Anwendung von FIS treten jedoch zusätzliche Reaktionen auf, deren Ursachen und Auswirkungen bisher noch nicht geklärt wurden und deshalb einer eingehenden Untersuchung bedürfen. Diese Reaktionen, die auch den Kurvenverlauf der SE beeinflussen können, werden durch die nichtlineare Reiz-Antwort-Beziehung und die Dynamik des biologischen Sehsystems verursacht. Die Auswirkung dieser Parameter soll in der vorliegenden Arbeit geklärt werden.

Um Einflüsse von Systemschwankungen weitestgehend auszuschließen, werden zuerst anstelle eines biologischen Objekts elektronische und numerische Modellsysteme mit nichtlinearer Kennlinie analysiert. Anschließend wird die Reaktion auf einfache und komplexe Sinusreize (FIS-Stimulus) untersucht. Sodann wird gezeigt, inwieweit sich die am Modellsystem gewonnenen Ergebnisse auf ein biologisches Objekt übertragen lassen.

Bei der Anwendbarkeit der Methode FIS wurde bisher die Gültigkeit einer linearen Näherung zwischen Reiz und Antwort vorausgesetzt. Neuere experimentelle Befunde zeigen jedoch Nichtlinearitäten in einer nicht mehr zu vernachlässigenden Größe. In dieser Arbeit wird abgeleitet werden, daß die Linearitätsbedingung für FIS eine nicht notwendige Einschränkung des Gültigkeitsbereiches bedeutet, und daß die später beschriebene hinreichende Grenzbedingung von den untersuchten biologischen Objekten in guter Näherung erfüllt wird.

Davon ausgehend werden methodische Vorteile von FIS gegenüber herkömmlichen Verfahren erklärt. Aufgrund der Eigenschaften der

FIS-Methode ist es schon mit Hilfe von ERG-Ableitungen möglich, komplexe Sehsysteme zu analysieren. Dies wird beispielhaft durch Untersuchungen zur SE verschiedener Schmetterlingsarten dargestellt werden.

Eine weiterführende Analyse von Sehsystemen kann durch die Auswertung der nichtlinearen Reaktionen und des Phasenverlaufes erfolgen, die bei der FIS-Untersuchung als zusätzliche Information gewonnen werden. Ihre Deutung, die aufgrund der hier durchgeführten methodischen Vorarbeiten ermöglicht wird, führt unter Umständen zu neuen und interessanten Aussagen. Dies wird zum Schluß der Arbeit an verschiedenen Beispielen dargestellt.

2. Einzelsinusreize am Modellsystem

2.0 Einführung

Im Abschnitt 2 werden die Auswirkungen von sinusförmigen Weißlichtreizen auf ein Modellsystem untersucht. Diese werden dabei durch eine mit einem elektronischen Scanner sinusförmig intensitätsmodulierte Xenon-Hochdrucklampe XBO 150W erzeugt. Die ausführliche Beschreibung der verwendeten Geräte erfolgt im Kapitel 4.2. Ein kurzer Abriß des in diesem Abschnitt verwendeten Aufbaus findet sich im Kapitel 2.2.

Als Modellsehsystem dient eine elektronische Schaltung bestehend aus einem Halbleiterphotoelement mit Folgeelektronik. Je nach Wahl der Beschaltung können nichtlineare und lineare Reiz-Antwort-Beziehungen (Kennlinien) erzeugt werden. Die nichtlinearen Kennlinien führen zu einer verzerrten Antwort des Untersuchungssystems auf sinusförmige Reize. Dies ist z. B. in Abb. 2.5 dargestellt. Die Abhängigkeit der Systemantwort von der Kennlinienform, dem Modulationsgrad und der zeitlich mittleren Intensität des Stimulus werden in den Kapiteln 2.3 bis 2.5 behandelt.

Das nachfolgende Kapitel 2.1 dient zur Abklärung des Begriffes "Kennlinie" und zur Einführung der Parameter, die bei der Bestimmung der Kennlinie eine Rolle spielen.'

2.1 Definition des Begriffes "Kennlinie"

Ein beliebiges System S ("black box") wird am Eingang mit einem Stimulus x gereizt und liefert am Ausgang die Antwort y (Abb. 2.1.1). Als Kennlinie wird der Graph derjenigen Funktion $y=f(x)$ bezeichnet, die den Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort beschreibt.

Reiz System S Antwort

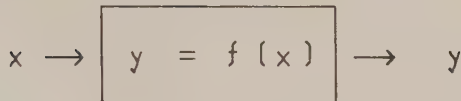


Abb. 2.1.1: Zur Definition des Begriffes "Kennlinie":
Das System S (black box) verknüpft die Ausgangsgröße
y mit der Eingangsgröße x über die Kennlinienfunktion
 $y = f(x)$.

Wird z. B. ein lichtempfindliches System wie ein Insektenauge elektrophysiologisch untersucht, erhält man auf einen Lichtreiz bestimmter Intensität und Spektralgehalts eine Änderung einer elektrischen Spannung als Reaktion. Diese Spannungsänderung dU entspricht der Ausgangsgröße y, die das System "Insektenauge" auf den der Eingangsgröße x entsprechenden Lichtreiz Q liefert.

Wenn man bei konstantem Spektralgehalt die Stärke des Lichtreizes Q ändert, erhält man Wertepaare $\{Q, dU(Q)\}$. Diese Wertepaare stellen den funktionellen Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort, die Kennlinie $dU = f(Q)$, dar. Im allgemeinen sind Kennlinien von weiteren Parametern abhängig. So ändert sich aufgrund der unterschiedlichen spektralen Empfindlichkeit eines lichtempfindlichen Systems die Antwort dU in Abhängigkeit vom Spektralgehalt des Reizlichtes.

Alle in dieser Arbeit dargestellten Kennlinien wurden mit einer Xenon-Hochdruck-Lampe als Reizlichtquelle gewonnen. Diese Lampe hat laut Hersteller die in Abb.4.2.2 dargestellte Spektralverteilung.

Wie im Kapitel 4.2 und in /Gemperlein et al., 1984/ gezeigt wird, wird diese Spektralverteilung durch den optischen Versuchsaufbau im relevanten Bereich von 350 - 700 nm nur geringfügig beeinflusst.

Weitere Parameter, die die Kennlinie in Lage und Form modifizieren können, sind Reizform und Adaptationszustand des untersuchten Systems. Diese Größen werden bei den entsprechenden Messungen erwähnt.

2.2 Das Halbleiter-Photoelement; ein Modell für Kennlinien-Einflüsse

Das für die nachfolgenden Betrachtungen verwendete Modellsystem besteht aus einer (durch ein Spektralfilter modifizierten) Halbleiter-Photodiode Ph mit nachgeschaltetem invertierenden Operationsverstärker OP (Abb. 2.2.1a). Der mit (-) bezeichnete invertierende Verstärkereingang verhält sich bei der in Abb. 2.2.1a dargestellten Beschaltung als virtueller Massepunkt (Hirschmann, 1978). Ein direkt am invertierenden Eingang liegendes elektronisches Signal scheint also gegen Masse kurzgeschlossen zu sein; die Eingangsimpedanz des OP ist vernachlässigbar. Damit bestimmt allein der im Eingangszweig liegende Widerstand X den für das Photoelement gültigen Eingangswiderstand der nachfolgenden Elektronik. Wird also für X eine Drahtbrücke (Widerstand = 0 Ohm) gewählt, ist das Photoelement über den Operationsverstärker kurzgeschlossen.

Die durch Lichtquanten im Photoelement entstehenden Ladungsträgerpaare erzeugen dabei den Kurzschlußstrom I_K ; dieser Strom wird durch die OP-Beschaltung in eine proportionale Spannung U umgesetzt.

Wählt man den Widerstand X sehr hochohmig, so können im Grenzfall $X \rightarrow \infty$ keine Ladungsträger mehr gegen Masse abfließen. Die im Photoelement erzeugten Ladungsträgerpaare akkumulieren sich und verursachen eine Potentialdifferenz U über der Photodiode. Diese Potentialdifferenz U ist wiederum am Ausgang des OP-

Verstärkers um einen konstanten Faktor V verstärkt verfügbar.

Je nach Widerstand X wirkt also das Photoelement als Strom- und/oder Spannungsquelle; am Ausgang des nachgeschalteten OP-Verstärkers steht in jedem Fall eine dazu proportionale Spannung zur Verfügung.

Die Reaktion der Halbleiter-Photodiode auf Licht ist jedoch abhängig von ihrer äußeren Beschaltung unterschiedlich (Elektor, 1983a):

Im Kurzschlußbetrieb ($X = 0$) ist der erzeugte Strom I_K proportional zur Anzahl der wirksamen Lichtquanten. Am Ausgang des nachgeschalteten OP-Verstärkers steht also eine Spannung zur Verfügung, die linear mit der Lichtintensität wächst. Im theoretischen Grenzfall $X \rightarrow \infty$ ist die über dem Photoelement auftretende Spannung logarithmisch mit der Zahl der auftreffenden wirksamen Quanten verknüpft; am Ausgang des nachgeschalteten OP-Verstärkers steht also eine Spannung zur Verfügung, die logarithmisch mit der Lichtintensität wächst. Je nach äußerer Beschaltung ist ein Halbleiter-Photoelement somit ein lichtempfindliches System mit linearer oder nichtlinearer (logarithmischer) Kennlinie.

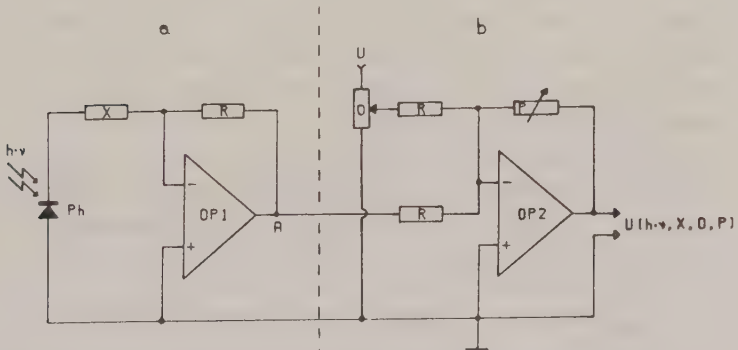


Abb. 2.2.1: Photoelement-Modellsystem mit variabler Kennlinie
a) Strom/Spannungswandler ($X=0$) bzw. Spannungsverstärker ($X>0$);
Ph: Photoelement X, R : Widerstände OP: Operationsverstärker
b) Schaltung zur Signalanpassung der am Punkt A liegenden Spannung;
O: Offsetregler P: Verstärkungsregler U: Spannung

Bisher wurden nur die Grenzfälle $X \rightarrow 0$ und $X \rightarrow \infty$ betrachtet. Besonders der Fall der unendlichen Eingangsimpedanz ist mit der in Abb. 2.2.1 dargestellten Schaltung nicht zu erreichen. In der Praxis zeigt sich aber, daß vor allem bei nicht zu kleinen Beleuchtungsstärken ein gut durch einen Logarithmus anzunähernder Zusammenhang zwischen Lichtreiz und Spannungsantwort besteht.

Dazu wurden die Kennlinien des Photoelements in Abhängigkeit des Parameters X experimentell ermittelt. Der dabei verwendete Versuchsaufbau ist im nächsten Kapitel beschrieben. Hier sollen nur die Ergebnisse dargestellt werden.

In Abb. 2.2.a bzw. 2.2.b sind in linearer bzw. halblogarithmischer Darstellung die Kennlinien des Photoelements in Abhängigkeit vom Widerstand X aufgetragen.

Dabei fällt auf, daß die Kennlinien im lichtschwachen Bereich zusammenfallen und linear sind. Bei Erhöhung der Intensität und mit größer werdendem Widerstand gehen sie immer früher in eine logarithmische Kennlinie über, die sich in halblogarithmischer Auftragung als Gerade darstellt.

Dieser linear-logarithmische Übergang läßt sich wie folgt verstehen:

In Abb. 2.2.3 ist noch einmal in einem Ersatzschaltbild der Eingangskreis der Photoelementbeschaltung gezeichnet. Er besteht aus der Ladungsträgerquelle "Photoelement", einem Belastungswiderstand " X " und einem Strommesser "Operationsverstärker" mit vernachlässigbarem Widerstand.

Im Photoelement werden durch eine pro Zeiteinheit einfallende Zahl N wirksamer Lichtquanten Ladungsträger erzeugt. Im Kurzschlußfall ($X = 0$) bilden diese Ladungsträger einen Maximalstrom $I_{\max}$ der proportional zur Anzahl N der wirksamen Quanten ist.

$$I_{\max} \Big|_{X=0} = \alpha \cdot N \quad , \text{ wobei } \alpha : \text{Proportionalitätsfaktor} \quad (2.2.1)$$

(Die Schreibweise $I_{\max} \Big|_{X=0}$ bedeutet: Strom unter der Bedingung $X=0$)

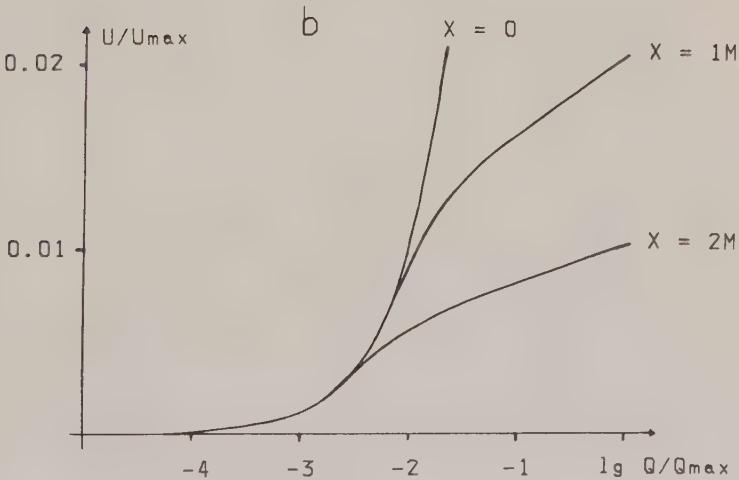
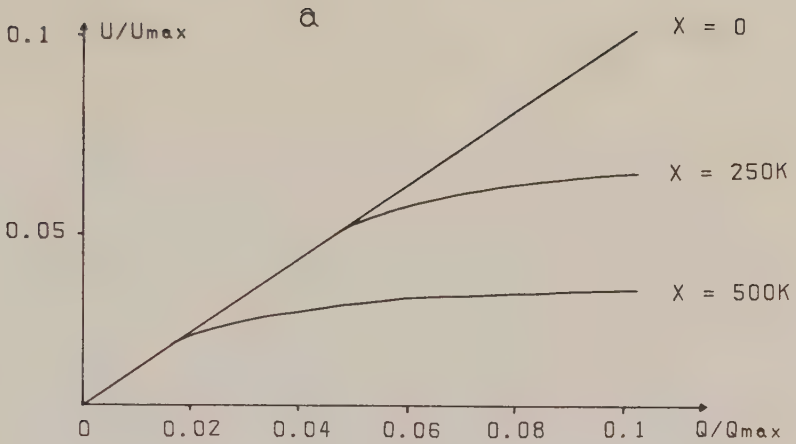


Abb. 2.2.2: Modellsystem-Kennlinien bei verschiedenen Widerständen X in linearer (a) bzw. halblogarithmischer (b) Auftragung.
 $U_{\max}$: Ausgangsspannung des Modellsystems nach Abb. 2.2.1 unter den Bedingungen $X=0\Omega$ und der Maximalintensität $Q_{\max}$.

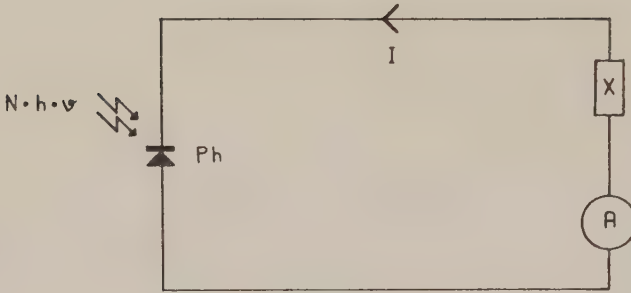


Abb. 2.2.3: Ersatzschaltbild für den Eingangskreis des Modellsystems; (näheres siehe Text)

Je nach Größe X eines in den Kreis geschalteten Widerstandes wird der real fließende Strom I verkleinert. Es gilt also die Ungleichung:

$$I \leq \alpha \cdot N \quad (2.2.2)$$

Andererseits folgt für I aus dem Ohmschen Gesetz:

$$I = \frac{U}{R} = \frac{U}{X} \quad (2.2.3)$$

Die Spannung U über dem Photoelement ist im offenen Kreis ($X \rightarrow \infty$) maximal und verhält sich dann, wie schon früher erwähnt, logarithmisch bezüglich der Anzahl N der pro Zeiteinheit einfallenden wirksamen Quanten. Es läßt sich also schreiben:

$$U_{\max} \Big|_{X \rightarrow \infty} = \beta \cdot \log(N) \quad , \text{ wobei } \beta: \text{Proportionalitätsfaktor} \quad (2.2.4)$$

Ist der Eingangskreis geschlossen, so wird mit abnehmendem Widerstand X auch die Spannung U über dem Photoelement immer kleiner. Für die Spannung über dem Photoelement gilt daher die Ungleichung:

$$U \leq \beta \cdot \log(N) \quad (2.2.5)$$

und mit 2.2.3

$$I \leq \frac{\beta}{X} \cdot \log(N) \quad (2.2.6)$$

Diese Gleichungen 2.2.1 bis 2.2.6 gelten natürlich nur für den Fall $N \gg 1$. Im Fall kleiner N ist diese Betrachtung nicht erlaubt, da das System nicht mehr quasistationär ist, sondern die diskreten Quantenereignisse eine Rolle spielen.

Für die technische Anwendung genügt jedoch die Annahme, daß der durch ein Photoelement erzeugte Strom bzw. die darüberliegende Spannung unterhalb einer bestimmten Beleuchtungsstärke nicht mehr meßbar sind.

Aus der bisherigen Ableitung folgen also zwei Ungleichungen, die den im Eingangskreis fließenden Strom nach oben begrenzen.

Graphisch ist dieses Ergebnis in Abb. 2.2.4 aufgetragen.

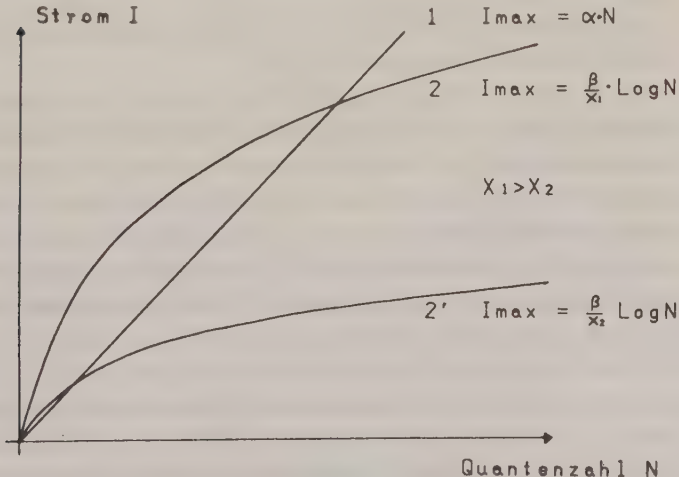


Abb. 2.2.4: Abschätzung des Maximalstromes $I_{\max}$ beim Photoelement in Abhängigkeit des Widerstandes X und der Quantenzahl N .

Man sieht aus der Graphik deutlich, daß bei kleinen Beleuchtungsstärken der im Eingangskreis fließende Strom durch die Kurve 1 (und damit einem linearen Zusammenhang zwischen Beleuchtungsstärke und Strom) gegeben wird.

Da aber beide Ungleichungen das Verhalten des Photoelements beschreiben, muß bei großen Beleuchtungsstärken Kurve 2 begrenzend wirken; d. h., der im Eingangskreis fließende Strom hängt logarithmisch von der Beleuchtungsstärke ab.

Dieser Übergang vom linearen zum logarithmischen Verhalten setzt bei um so kleineren Beleuchtungsstärken ein, je größer der Widerstand X ist, denn um so flacher wird die in Abb. 2.2.4 dargestellte logarithmische Kurve 2.

Der aufgrund der vorangehenden Betrachtung gefundene Sachverhalt wird durch die experimentell ermittelten Kurven Abb. 2.2.2a bzw. 2.2.2b bestätigt. Wird also ein Photoelement wie in Abb. 2.2.1 dargestellt beschaltet, zeigt es im niedrigen Intensitätsbereich eine lineare Beziehung zwischen Lichtreiz und entstehendem Strom, der vom nachfolgenden Operationsverstärker in eine proportionale Spannung umgewandelt wird.

Mit höherer Intensität geht der lineare Zusammenhang kontinuierlich in einen logarithmischen über.

Mit diesem Verhalten ähnelt die Kennlinie des Photoelements der Kennlinie eines biologischen Sehsystems, wie z. B. der einer Insekten-Sehzelle. Bei nicht zu kleinem Widerstand X und nicht zu kleinen Beleuchtungsstärken entspricht das Photoelement mit seinem logarithmischen Reiz/Antwort-Zusammenhang dem mittleren Bereich der mit Rechteckreizen gemessenen Kennlinie biologischer Sehsysteme (siehe z.B. für *Calliphora* e.: Gemperlein, Smola, 1972a und Smola, Gemperlein, 1972b).

Wird solch ein nichtlineares System mit einer definierten Reizform stimuliert, so wird diese an der nichtlinearen Kennlinie verzerrt.

Wie sich aus Abb. 2.2.5 erkennen läßt, führt eine sinusförmige Reizmodulation um den Arbeitspunkt P zu einer Antwort, die nicht mehr durch einen Sinus darstellbar ist. Zerlegt man diese Antwort

Fourier-analytisch, erhält man neben einer zum Reiz gleichfrequenten linearen Reaktion auch höherfrequente nichtlineare Komponenten. In ähnlicher Weise findet man auch für einen komplexen Sinusreiz (Gleichzeitige Reizung mit mehreren sinusförmigen Frequenzkomponenten) neben der linearen eine nichtlineare Antwort.

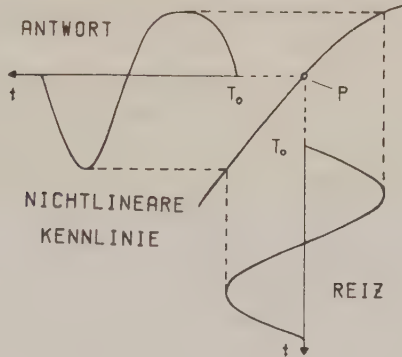


Abb. 2.2.5: Verzerrung eines sinusoiden Reizes an einer nichtlinearen Kennlinie;
P: Arbeitspunkt T_0 : Startpunkt der Modulation
Die Antwort wird verzerrt.

Unter welchen Bedingungen diese lineare Antwort des nichtlinearen Systems gleich der linearen Antwort des linearen Systems ist, soll u. a. in dieser Arbeit geklärt werden. Dabei wird neben der numerischen Simulation das Modellsystem "Photoelement" verwendet. Wegen der Umschaltmöglichkeit zwischen linearer und nichtlinearer Übertragungsfunktion ist es zur Untersuchung nichtlinearer Störeinflüsse bestens geeignet. Gleichzeitig sollte es wegen der oben besprochenen Ähnlichkeit der Kennlinie ein hinsichtlich der Signalübertragung geeignetes Modell für ein biologisches Sehsystem im mittleren Intensitätsbereich sein.

Wie sich jedoch später zeigen wird, ist diese Annahme nur mit Einschränkung gültig. Bei der mit Rechteckreizung aufgenommenen Kennlinie des biologischen Sehsystems wird nämlich die Dynamik des

Sehprozesses nicht berücksichtigt. Dies geschieht erst durch eine andere Art der Kennlinienbestimmung, die im nächsten Kapitel am Beispiel des Modellsystems dargestellt werden soll.

2.3. Bestimmung der Kennlinie mit Rechteckreizen und modulierten Reizen; Zusammenhang zwischen diesen beiden Kennlinienfunktionen

Zur Bestimmung der Kennlinie eines lichtempfindlichen Systems wird dessen Reiz-Antwort-Beziehung experimentell ermittelt. Dies geschieht häufig mit Rechteckreizen verschiedener Intensität. Dabei wird ein Reiz mit zeitlich rechteckförmigem Verlauf gegeben. Bei dem Modellsystem "Photoelement" bedeutet dies, daß für eine bestimmte Zeit dt ein Verschuß geöffnet wird und eine bestimmte während dt konstante Lichtintensität auf das Photoelement fällt. Als Antworthöhe wird die Potentialdifferenz zwischen den Zuständen "Verschuß auf" und "Verschuß zu" bezeichnet (Abb. 2.3.1).

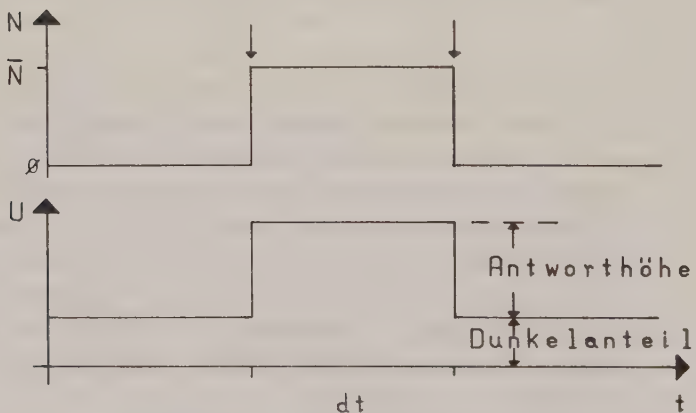


Abb. 2.3.1: Rechteckreizung am Modellsystem;
Oberes Teilbild: Zeitverhalten der auf das Photoelement treffenden wirksamen Quanten N ; die Pfeile bezeichnen "Verschuß auf" bzw. "Verschuß zu".

Unteres Teilbild: Zeitverhalten der Ausgangsspannung U des Modellsystems nach Abb. 2.2.1.

Je nach Offset-Einstellung des in Abb. 2.2.1 eingezeichneten Offset-Reglers, dem Dunkelstrom des Photoelementes und Fehlströmen der elektronischen Beschaltung liefert das Modellsystem auch ohne Belichtung einen Dunkelanteil zum Gesamtpotential.

In der Praxis treten bei der Bestimmung der Antworthöhe Schwierigkeiten auf, wenn der Dunkelanteil schwankt oder Störspannungen (Brumm, Rauschen) dem Signal überlagert sind. Bei biologischen Systemen beeinflussen zusätzlich noch Adaptationsphänomene und Einschwingeffekte die exakte Antworthöhenbestimmung.

Aus den vorstehend genannten Gründen bietet sich neben der Rechteckreizung als günstigere Reizform eine zeitlich sinusförmige Intensitätsmodulation an (Abb. 2.3.2). Im Gegensatz zur Rechteckreizung stört dann ein driftender Dunkelanteil nicht, wenn man als Antwortgröße den Abstand zwischen Maximum und Minimum der Antwort definiert. Auch nieder- oder höherfrequente Signalstörungen können leicht durch elektronische analoge oder digitale Bandpassung ausgefiltert werden.

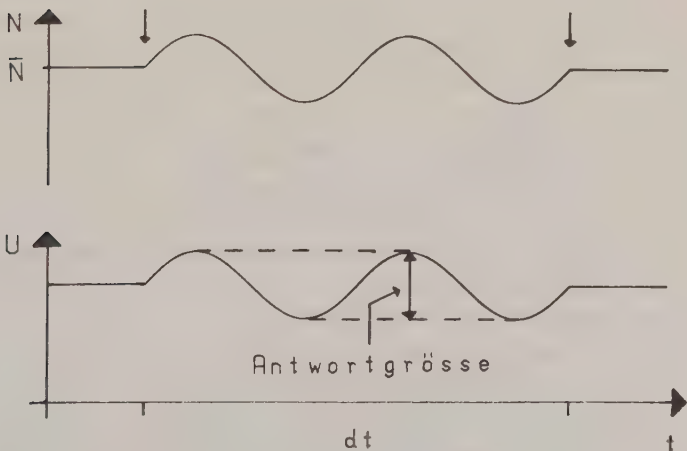


Abb. 2.3.2: Sinusreizung am Modellsystem;
Oberes Teilbild: Zeitverhalten der Reizintensität (N : wirksame Quanten); Pfeile: Modulationsbeginn bzw. -ende.
Unteres Teilbild: Zeitverhalten der Antwort U .

Hinsichtlich biologischer Systeme bietet sich der Modulationsreiz ebenfalls an: Bei nicht zu großer Modulationstiefe kann man den Reiz als kleine Störung eines konstanten Adaptationsniveaus betrachten. Das biologische System ist deshalb nach Reizbeginn schnell eingeschwungen und befindet sich während der Stimulation in einem annähernd konstanten biochemischen und physiologischen Zustand.

Ausgehend von der Definition der Kennlinienfunktion (Kapitel 2.1) läßt sich auch für den sinusoiden Modulationsreiz ein Reiz-Antwort-Zusammenhang angeben. Im weiteren soll untersucht werden, wie sich diese durch modulierten Reiz gewonnene Kennlinie K_{mod} zur Kennlinie K_{rec} verhält, die durch Rechteckreizung ermittelt wird.

Betrachten wir die lineare Kennlinie des Photoelements in Abb. 2.2.2; sie wurde mit Rechteckreizung bestimmt. Der apparative Aufbau dazu ist in Abb. 2.3.3 dargestellt.

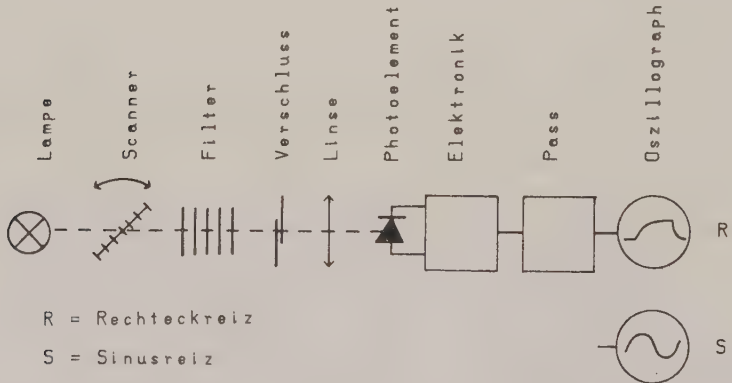


Abb. 2.3.3: Apparativer Aufbau zur Messung der Photoelement-Kennlinie:

Der Verschluss dient zur Rechteckreizung. Die sinusförmige Modulation wird durch eine Hin- und Herbewegung des Scanners erzeugt, wobei seine Lamellen den Lichtweg unterschiedlich abschatten.

Die verschiedenen Intensitätsstufen wurden durch Graufilterkombinationen erzeugt. Als Lichtquelle diente eine Xenon-Hochdrucklampe, als Verschluss ein elektromechanischer Shutter. Die Antwort des Photoelements wurde tiefpassgefiltert ($f_G = 1 \text{ Hz}$), um hochfrequente Störungen auszuschließen. Der Tiefpass wirkt jedoch integrierend; dies bedeutet, daß man bei rechteckförmigem Intensitätswechsel ein "Einkriechen" der Antwort auf den neuen Wert erhält. Man muß also warten, bis sich der neue Antwortendwert eingestellt hat. Im Gegensatz zu adaptierenden Systemen ist dies beim Photoelement ohne Belang.

Wie in Abb. 2.3.3 dargestellt, wird bei der Rechteckreizung der Verschluss zur Reizerzeugung betätigt. Den sinusförmigen Stimulus erhält man durch Lichtmodulation mittels eines elektromechanischen Lamellenscanners.

Im Fall der durch Rechteckreizung ermittelten linearen Rechteckkennlinie aus Abb. 2.2.2 sind die Reizintensität und Antworthöhe zueinander proportional und bilden als Graph eine Gerade.

Es erscheint logisch, daß für sinusförmig modulierte Reize der gleiche Sachverhalt gilt, d. h., daß z. B. ein 50%iger Graufilter zu einer 50%igen Reduktion der Antwortgröße (definiert als Potentialabstand zwischen Maximum und Minimum der Antwort) führt.

Wie später in diesem Kapitel gezeigt werden wird, sind die durch Modulationsreizung bzw. Rechteckreizung gewonnenen Kennlinien im linearen Fall graphisch tatsächlich identisch. Daraus darf man aber nicht schließen, daß in beiden Fällen der gleiche Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort gemessen wird. Dies zeigen die halblogarithmischen Darstellungen Abb. 2.3.4 und 2.3.5. In Abb. 2.3.4 ist die Antwortgröße des Photoelements auf sinusförmige Reizung bei unterschiedlichen Intensitäten aufgetragen. Diese Modulationskennlinie ist bei einem Eingangswiderstand von $X = 1 \text{ M } \Omega$ der elektronischen Folgeschaltung ermittelt. Die gleiche Bedingung gilt für die mit Rechteckreizen ausgemessene Kennlinie in Abb. 2.3.5. Wie schon in Abb. 2.2.2 gezeigt, besteht sie aus einem linearen Anfangsteil, der zu höheren Intensitäten in eine logarithmische Abhängigkeit übergeht.

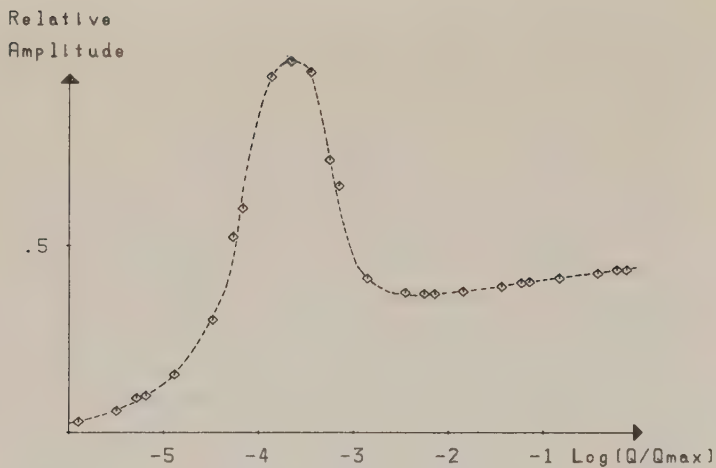


Abb. 2.3.4: Modulationskennlinie K_{mod} des Photoelements bei einem Eingangswiderstand von $X=1 \text{ M}\Omega$; Die eingezeichneten Punkte sind Meßpunkte.

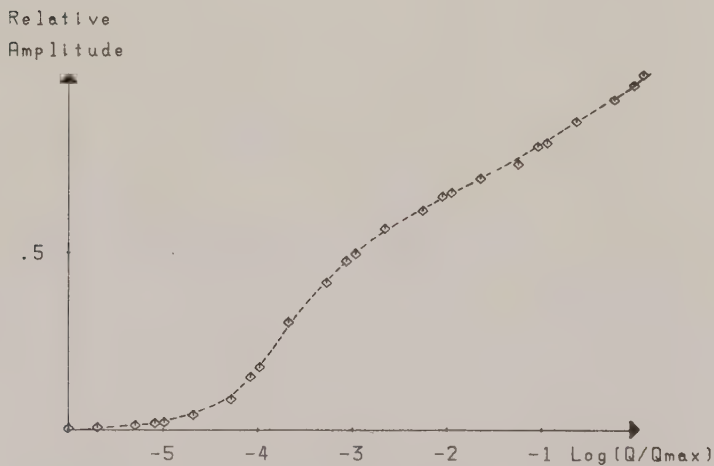


Abb. 2.3.5: Rechteckkennlinie K_{rec} des Photoelements bei einem Eingangswiderstand von $X=1 \text{ M}\Omega$; Die eingezeichneten Punkte sind Meßpunkte.

Beim Vergleich der beiden Abb. 2.3.4 und 2.3.5 stimmen die Graphen qualitativ nur bei niedrigen Intensitäten überein. Dies deckt sich mit der oben getroffenen Aussage, daß im linearen Fall Modulationskennlinie und Rechteckkennlinie graphisch übereinstimmen. Im Bereich höherer Intensitäten jedoch sind die Kurvenformen von Abb. 2.3.4 und 2.3.5 nicht mehr ähnlich. Sie stellen somit unterschiedliche Funktionen dar.

Der Zusammenhang zwischen Rechteckkennlinie K_{rec} und Modulationskennlinie K_{mod} soll nachfolgend in einer theoretischen Überlegung ermittelt werden. Es wird sich dabei zeigen, daß die Modulationskennlinie im halblogarithmischen Bild der funktionellen Ableitung der Rechteckkennlinie entspricht.

Betrachten wir einen funktionellen linearen Zusammenhang zwischen Reiz x und Antwort y , also im einfachsten Fall die dimensionslose Funktion $y = x$. Wählt man z. B. für x die auf den Maximalwert normierte Intensität Q , also

$$x = \frac{Q}{Q_{\text{max}}} \quad ,$$

und für y die auf den Maximalwert normierte Ausgangsspannung $U(Q)$, also

$$y = \frac{U(Q)}{U_{\text{max}}} \quad ,$$

so wird mit der Funktion $y = x$ die mit Rechteckkreuzung gemessene Kennlinie des Modellsystems "Photoelement" nach Abb. 2.2.1 mit $X = 0\Omega$ beschrieben. Die Nebenbedingung

$$\frac{U}{U_{\text{max}}} = 0 \quad \bigg| \quad \frac{Q}{Q_{\text{max}}} = 0$$

läßt sich mit Hilfe des Offset-Reglers erfüllen.

Die Funktion $y = x$ ist in Abb. 2.3.6 zweimal dargestellt: Zum einen in einer linearen ($x = \text{linear}/ y = \text{linear}$) Auftragung, zum anderen in einer halblogarithmischen ($x = \text{logarithmisch}/ y =$

linear) Darstellung (Abb. 2.3.6a und 2.3.6b).

In dieser zweiten Abbildung ist also die Abszisse in Einheiten $z = \log_b x$ geteilt¹⁾. Deshalb steigt der Graph der Funktion $y = x$ in der halblogarithmischen Auftragung über der Abszissengröße z exponentiell an ($y = b^z$); dies zeigt sich auch in Abb. 2.2.2b und Abb. 2.3.5.

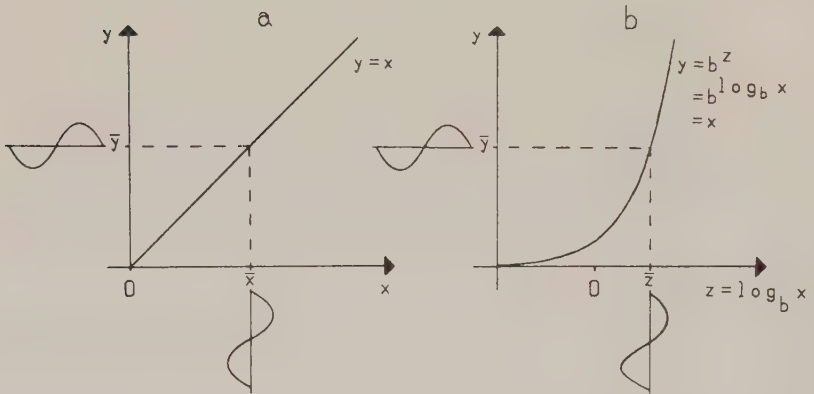


Abb. 2.3.6: Die Funktion $y=x$ in linearer (a) und halblogarithmischer (b) Darstellung;
Die sinusförmige Modulation um $\bar{x}$ wird in halblogarithmischer Darstellung verzerrt.

Die Punkte $\bar{x}$ bzw. $\bar{z}$ in Abb. 2.3.6 bezeichnen den Arbeitspunkt, um den x sinusförmig moduliert wird. In dem Modellsystem "Photoelement" entspricht also x einem bestimmten durch Graufilter und Schrägstellung des Lichtmodulators (Lamellenscanner) vorgegebenen Intensitätsverhältnis $Q/Q_{\max}$ (siehe Abb. 2.3.3). Durch Verdrehung des Lamellenscanners zur Senkrechten (bezüglich des Lichtstrahles) hin wird mehr Licht durchgelassen; durch Drehung zur Waagerechten

1) Bezeichnung: $z = \log_b x \leftrightarrow b^z = x$

schatten die Lamellen des Scanners die Lichtquelle stärker ab. Diesem maximalen bzw. minimalen Lichtdurchlaß entsprechen die Größen:

$$x_{\max} = \frac{Q_{\text{scanner maximal}}}{Q_{\max}}$$

bzw.

$$x_{\min} = \frac{Q_{\text{scanner minimal}}}{Q_{\min}}$$

Als Modulationsgrad m wird im weitem folgendes Verhältnis bezeichnet:

$$m = \frac{x_{\max} - x_{\min}}{x_{\max} + x_{\min}} \cdot 100\% \quad (2.3.1)$$

wobei gelten muß: $x_{\max} \geq x_{\min} \geq 0$

Der Modulationsgrad m kann also zwischen 0% und 100% betragen. Es ist leicht zu sehen, daß der Modulationsgrad m nur von der Scannerneigung und nicht von der durch Graufilter eingestellten Intensitätsstufe abhängt: Ein Graufilter ändert die (normierten) Intensitäten um einen Faktor F . Damit ergibt sich nach Gleichung (2.3.1) ein Modulationsgrad $\tilde{m}$:

$$\tilde{m} = \frac{F \cdot x_{\max} - F \cdot x_{\min}}{F \cdot x_{\max} + F \cdot x_{\min}} \cdot 100\% = \frac{F}{F} \cdot \frac{x_{\max} - x_{\min}}{x_{\max} + x_{\min}} \cdot 100\% \equiv m$$

$$\rightarrow \tilde{m} = m \neq f(F)$$

Der Arbeitspunkt $\bar{x}$ ist der Mittelwert der sinusförmigen Modulation. Deshalb gilt die Beziehung:

$$x_{\max} + x_{\min} = 2 \bar{x} \quad (2.3.2)$$

Damit läßt sich für 2.3.1 schreiben:

$$m = \frac{x_{\max} - x_{\min}}{2 \bar{x}} \quad (2.3.3)$$

Bei konstantem Modulationsgrad m und mit der Abkürzung

$$x_{\max} - x_{\min} = dx \text{ folgt :}$$

$$2\bar{x} \cdot m = dx \quad (2.3.4)$$

Die Modulationsgröße dx ist also direkt proportional zur mittleren Intensitätsstufe $\bar{x}$, wenn der Modulationsgrad m konstant bleibt.

Die Antwortgröße $dy = y_{\max} - y_{\min}$ hängt formal mit der Reizamplitude dx wie folgt zusammen:

Die Kennlinienfunktion $y = x$ wird im Punkt $\bar{x}$ in eine Taylor-Reihe entwickelt. Für einen Punkt x_i berechnet sich dann die Größe y_i zu:

$$y_i = \bar{y} + y' \Big|_{\bar{x}} \cdot (x_i - \bar{x})^1) \quad (2.3.5)$$

Für die Antwortgröße dy ergibt sich somit:

$$dy = y_{\max} - y_{\min} = \bar{y} + y' \Big|_{\bar{x}} \cdot (x_{\max} - \bar{x}) - \bar{y} - y' \Big|_{\bar{x}} \cdot (x_{\min} - \bar{x})$$

und unter Verwendung von (2.3.4):

$$dy = y' \Big|_{\bar{x}} \cdot m \cdot 2 \bar{x} \quad (2.3.6)$$

1) Bezeichnung $y' \Big|_{\bar{x}}$ bedeutet: Ableitung der Funktion y an der Stelle $\bar{x}$.

In Worten bedeutet dieses Ergebnis:

Die Antwortgröße dy ist bei konstantem Modulationsgrad m von zwei weiteren Größen abhängig, nämlich 1. von der Steigung der Kennlinienfunktion im Modulationsmittelpunkt $\bar{x}$ und 2. von dem durch $\bar{x}$ gegebenen mittleren Reizniveau.

In dieser Arbeit wird die Kennlinienfunktion $y = f(x)$ als Rechteckkennlinie, die Abhängigkeit $dy = f(x)$ unter der Nebenbedingung $m = \text{konst.}$ als Modulationskennlinie bezeichnet.

Für den Zusammenhang zwischen Rechteckkennlinie und Modulationskennlinie gilt in der bisher betrachteten linearen Darstellung: Die Modulationskennlinie entspricht bis auf eine Konstante der Ableitung der Rechteckkennlinie im Punkt $\bar{x}$ multipliziert mit der Intensitätsstufe $\bar{x}$.

Natürlich ist dieses durch formale Anwendung der Taylor-Reihe gewonnene Ergebnis für den linearen Fall trivial. Da für die Funktion $y=x$ die Ableitung y' eine Konstante ist, folgt aus 2.3.6:

$$dy \sim \bar{x}$$

Dies ergibt sich schon aus Gleichung 2.3.4, wenn man berücksichtigt, daß im betrachteten linearen Fall dy proportional dx ist.

Für eine komplexere nichtlineare Funktion $y = f(x)$ wird der Zusammenhang zwischen Rechteckkennlinie und Modulationskennlinie in linearer Darstellung durch Gleichung (2.3.6) nur in Näherung beschrieben, da die Taylor-Reihe für den allgemeinen Fall $y = f(x)$ nicht wie in Gleichung (2.3.4) nach dem linearen Glied abbricht. Es wird jedoch in Kapitel 2.4 gezeigt werden, daß Gleichung (2.3.6) schon dann exakt ist, wenn sich das durch die Modulation betroffene Kurvenstück der Rechteckkennlinie quadratisch nähern läßt. Bei nicht zu pathologischen Kurven ist dies immer der Fall, wenn der

Modulationsgrad nicht zu groß gewählt wird. Für die hier verwendeten Ableitungen kann die Taylor-Reihe immer nach dem linearen Glied abgebrochen werden.

In der halblogarithmischen Darstellung (Abb. 2.3.5b ; es gilt $y = f(z) = f(\log_b x)$) hängen Antwortgröße dy und Reizgröße dz ebenfalls formal über eine Taylorentwicklung im Punkt $\bar{z}$ zusammen. Für eine zum Punkt z_i in der Umgebung von $\bar{z}$ gehörige Größe y_i gilt somit:

$$y_i = \bar{y} + y' \Big|_{\bar{z}} \cdot (z_i - \bar{z}) + \underbrace{y'' \Big|_{\bar{z}} \cdot \frac{(z_i - \bar{z})^2}{2!} + \dots + y^{(n)} \Big|_{\bar{z}} \cdot \frac{(z_i - \bar{z})^n}{n!}}_{\text{Rest R}} \quad (2.3.7)$$

Wenn man den Rest R vernachlässigt (siehe oben), folgt für die Antwortgröße $dy = y_{\max} - y_{\min}$:

$$dy = y' \Big|_{\bar{z}} \cdot dz$$

Wenn man analog zu Gleichung 2.3.6 die Antwortgröße dy in Abhängigkeit vom mittleren Niveau $\bar{z}$ schreiben will, zeigt sich, daß dz unabhängig von $\bar{z}$ ist.

Es gilt:

$$dz = z_{\max} - z_{\min} = \log_b x_{\max} - \log_b x_{\min} \quad (2.3.9)$$

Mittels (2.3.2) und (2.3.3) läßt sich für $x_{\max}$ bzw. $x_{\min}$ schreiben:

$$x_{\max} = (1+m) \cdot \bar{x} \quad (2.3.10)$$

$$x_{\min} = (1-m) \cdot \bar{x}$$

Damit folgt aus (2.3.9):

$$\begin{aligned} dz &= \log_b \{ (1+m) \cdot \bar{x} - \log_b (1-m) \cdot \bar{x} \} = \\ &= \log_b (1+m) + \log_b \bar{x} - \log_b (1-m) - \log_b \bar{x} = \\ &= \log_b \frac{(1+m)}{(1-m)} = f(\bar{z}) \end{aligned} \quad (2.3.11)$$

Die Reizgröße dz ist also bei festem Modulationsgrad m konstant und unabhängig von $\bar{z}$. Deshalb läßt sich für (2.3.8) auch schreiben:

$$dy = C \cdot y' \Big|_{\bar{z}} \quad (2.3.12)$$

wobei C = konstant ist.

Gleichung 2.3.12 bedeutet in Worten:

Wenn die Kennlinienfunktion $y = f(x)$ in halblogarithmischer Darstellung über $z = \log_b x$ aufgetragen wird, so zeigt die bei konstantem Modulationsgrad aufgenommene Modulationskennlinie bis auf eine Konstante die Ableitung des Graphen der Rechteckkennlinie.

Anders gesagt, führt die lineare Integration der im halblogarithmischen Bild dargestellten Modulationskennlinie zur Rechteckkennlinie in gleicher Darstellung.

Anhand des Weber-Fechnerschen-Gesetzes sollen die Ergebnisse noch einmal erläutert werden. Die Grundlage dieser Gesetzmäßigkeit bildet die von Weber getroffene Beobachtung, daß bei psychophysischen Untersuchungen eine unterschiedliche Beleuchtungsstärke zweier verschiedener reflektierender Flächen zum gleichen Kontrasteindruck, d. h. zur gleichen Antwortgröße dy führt. Daraus läßt sich der Zusammenhang ableiten, daß die Antwort logarithmisch vom Reiz abhängt (Weber-Fechnersches-Gesetz). Auf diese vereinfachte Kennlinienfunktion $y = \log_b x$ werden nachfolgend die oben gefundenen Beziehungen zwischen Rechteckkennlinie und Modulationskennlinie angewandt.

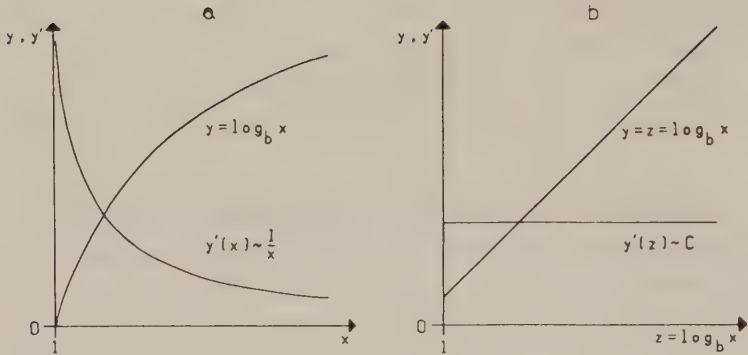


Abb. 2.3.7: Lineare (a) bzw. halblogarithmische (b) Darstellung der Funktion $y = \log_b x$ und ihrer Ableitungen $y' = dy/dx$; Die Ableitungen sind nicht ordinatentreu.

In Abb. 2.3.7 ist die Funktion $y = \log_b x$ linear und halblogarithmisch dargestellt. Zusätzlich sind noch (nicht ordinatentreu) die Ableitungen zur jeweiligen Bezugsgröße aufgetragen. Im linearen Bild gilt für die Modulationskennlinie die Gleichung 2.3.6:

$$dy = y' \bigg|_{\bar{x}} \cdot m \cdot 2 \bar{x}$$

Da die Ableitung y' , wie aus Abb. 2.3.7a ersichtlich, umgekehrt proportional zur Reizgröße x ist, folgt für die Antwortgröße dy :

$$dy = C \cdot 2 \cdot m \quad , \text{ wobei } C \text{ eine Konstante ist.}$$

Die Antwortgröße dy ist also insbesondere keine Funktion von der

Reizgröße x , sondern nur eine Funktion des Modulationsgrades m . Bei konstantem Modulationsgrad wird das Weber-Fechnersche-Gesetz erfüllt; die Konstanz der Unterscheidungsgröße dy bezüglich der mittleren Reizgröße x bleibt erhalten¹⁾.

Einfacher ist dieses Ergebnis zu sehen, wenn die Kennlinienfunktion $y = \log_b x$ im halblogarithmischen Bild aufgetragen wird. Nach Gleichung 2.3.12 ist die Ableitung dieses Graphen bis auf eine Konstante die Modulationskennlinie. Der funktionelle Zusammenhang zwischen Antwortgröße dy und der mittleren Reizgröße $\bar{x}$ ist deshalb direkt aus der Form der in Abb. 2.3.7b aufgetragenen Ableitung zu erkennen.

In Abb. 2.3.4 war die mit konstantem Modulationsgrad gewonnene Modulationskennlinie des Modellsystems "Photoelement" dargestellt. Nach Beziehung (2.3.12) sollte deren Integral bis auf eine Konstante die Rechteckkennlinie in Abb. 2.3.5 ergeben.

Abb. 2.3.8 zeigt das Ergebnis dieser mit Hilfe der Trapezregel auf einem Microcomputer (Poly 88) durchgeführten numerischen Integration. Die durchgezogene Linie zeigt das (skalierte) Integral äquidistanter Punkte²⁾ aus Abb. 2.3.4, die eingezeichneten Punkte sind die Meßwerte der durch Rechteckreizung gewonnenen Rechteckkennlinie (Abb. 2.3.5). Beide Kurven stimmen überein.

1) Konstanter Modulationsgrad ist äquivalent zur Formulierung des Weberschen Gesetzes der Psychophysik: $\frac{dx}{x} = \text{konst.}$

Die Definition des Modulationsgrades m lautet analog:

$$m = \frac{dx}{2\bar{x}} \quad (\text{siehe Gleichung 2.3.4})$$

2) Die äquidistanten Punkte wurden der Ausgleichskurve entnommen.

Die Anzahl N der Punkte für die gesamte Kurve war $N = 40$.

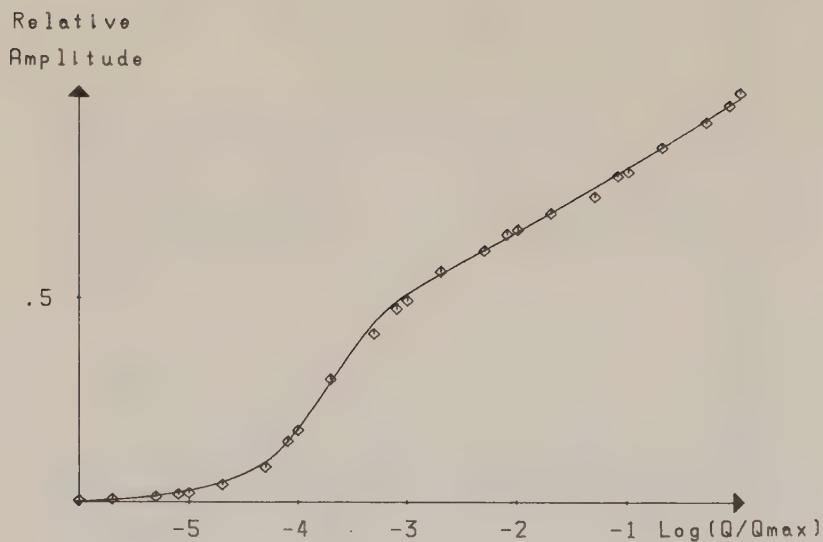


Abb. 2.3.8: Integrierte Modulationskennlinie und Rechteckkennlinie;
Die durchgezogene Linie zeigt das Integral der in Abb. 2.3.4 halb-
logarithmisch dargestellten Modulationskennlinie;
Die Punkte sind die Meßpunkte der Rechteckkennlinie aus Abb. 2.3.5.

Zusammenfassend soll somit folgendes festgehalten werden:

Zum Bestimmen der Kennlinienfunktion K_{rec} gibt es neben der Rechteckreizmethode ein unter bestimmten Bedingungen (schwankendes Ruhepotential, verrauschtes Signal, biologisches Objekt) besser geeignetes Verfahren mittels sinusförmiger Reizung konstanten Modulationsgrades. Die auf diese inkrementale Reizung dx gewonnene Antwortgröße dy wird in Abhängigkeit von der mittleren Reizgröße $\bar{x}$ als Modulationskennlinie K_{mod} bezeichnet.

Die Modulationskennlinie K_{mod} läßt sich leicht in die Kennlinienfunktion K_{rec} umrechnen. Dazu wird die halblogarithmische Darstellung der Modulationskennlinie linear integriert.

Anzumerken ist jedoch, daß dieses Verfahren nur dann vollständig ist, wenn die Kennlinienfunktion bestimmten Bedingungen genügt; dies gilt zum einen hinsichtlich der Form des durch den Modulationsreiz betroffenen Kurvenstücks. Dieser Einfluß wird im nächsten Kapitel besprochen. Weiterhin wurde vorausgesetzt, daß sich die Übertragungsfunktion in eine Potenzreihe entwickeln läßt, wie es streng nur für Systeme ohne Dynamik ("zero memory system") gültig ist. Zusätzlich wurde implizit davon ausgegangen, daß die Kennlinienfunktion selbst keine Abhängigkeit vom mittleren Reizniveau zeigt, daß also keine adaptiven Vorgänge stattfinden.

Obige Bedingungen erfüllt das Modellsystem "Photoelement", nicht jedoch ein biologisches Sehsystem. Für adaptive, dynamische Systeme wird das Integral der Modulationskennlinie eine andere Kennlinienfunktion darstellen als die Rechteckkennlinie, die, jeweils von einem definierten Adaptationszustand ausgehend (z. B. dunkeladaptiert), mit kurzen Lichtreizen verschiedener Intensität ermittelt wird. Auf diesen Punkt wird in Kapitel 5.2 eingegangen.

2.4. Näherung eines Kennlinienstückes durch die Taylor-Reihe;
Einfluß ihrer Glieder auf den Reiz-Antwort-Zusammenhang

In der im Kapitel 2.3 gemachten Näherung zur Klärung der Zusammenhänge zwischen Modulationskennlinie und Rechteckkennlinie wurde die Taylor-Reihen-Entwicklung nach dem linearen Glied abgebrochen. Die Begründung dafür soll in den nachfolgenden Überlegungen geliefert werden.

Eine sinusförmige Intensitätsmodulation um ein als Arbeitspunkt P bezeichnetes mittleres Intensitätsniveau Q_P läßt sich als Funktion der Zeit wie folgt beschreiben:

$$Q(t) = Q_P (1 + m \cdot \sin(\omega t)) \quad (2.4.1)$$

wobei $\frac{\omega}{2\pi}$ die Frequenz f und

$$m = \frac{Q_{\min} - Q_{\max}}{Q_{\min} + Q_{\max}} \quad \text{der Modulationsgrad des Sinusreizes ist.}$$

Normiert man diese Intensität $Q(t)$ auf die mittlere Intensität Q_P , so erhält man die benennungslose Reizgröße $x(t)$:

$$\frac{Q(t)}{Q_P} = x(t) = 1 + m \cdot \sin(\omega t) \quad (2.4.2)$$

Dem Reiz $x(t)$ ist über die Kennlinienfunktion f_K die Antwort $y(t)$ zugeordnet.

Entwickelt man diese Kennlinienfunktion f_K um den Arbeitspunkt P (entspricht im normierten Fall der Intensität 1) in eine Taylor-Reihe, so ergibt sich folgender funktioneller Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort:

$$y(t) = f_K(x=1) + \frac{f_K'(x=1)}{1!} (x(t)-1) + \frac{f_K''(x=1)}{2!} (x(t)-1)^2 + \\ + \frac{f_K'''(x=1)}{3!} (x(t)-1)^3 + \text{höhere Glieder} \quad (2.4.3)$$

Mit Beziehung 2.4.2 läßt sich schreiben:

$$y(t) = f_K(x=1) + f_K'(x=1) \cdot m \cdot \sin(\omega t) + \frac{1}{2} f_K''(x=1) (m \cdot \sin(\omega t))^2 + \\ + \frac{1}{6} f_K'''(x=1) (m \cdot \sin(\omega t))^3 + \text{höhere Glieder} \quad (2.3.4)$$

Für den Fall $t=0$ folgt der zur Intensität $x=1$ gehörige Antwortgleichwert $y(t=0)$. Da für zeitabhängige Reize hier nur die zeitabhängige Antwort interessiert, wird das Glied $y(t=0) = f_K(x=1)$ im weiteren nicht mehr betrachtet. Damit ergibt sich folgende Kennlinie für sinusförmig modulierte Reize:

$$y(t) = f_K'(x=1) \cdot m \cdot \sin(\omega t) + \frac{1}{2} f_K''(x=1) (m \cdot \sin(\omega t))^2 + \\ + \frac{1}{6} f_K'''(x=1) (m \cdot \sin(\omega t))^3 + \text{höhere Glieder} \\ \equiv f_T(x(t)) \quad f_K(x(t)) : \text{Taylor-Funktion} \quad (2.4.5)$$

Der Zusammenhang zwischen der Funktion $y(t) = f_K(x(t))$ und der Funktion $y(t) = f_T(x(t))$ ist in Abb. 2.4.1 graphisch dargestellt. Man erkennt dabei, daß sich $y(t) = f_T(x(t))$ als ursprungstransformierte Funktion von $y(t) = f_K(x(t))$ auffassen läßt. Die Taylor-Funktion f_T beschreibt also das Kennlinienstück, welches für modulierte Reize eine Rolle spielt. Ist dieses Kennlinienstück linear, dann bricht die Taylorentwicklung nach dem linearen Glied ab, da höhere Ableitungen der Funktion f_K verschwinden. Für die Antwortgröße $y(t)$ gilt dann mit $f_K'(x=1) = C = \text{konstant}$:

$$y(t) = f_K'(x=1) \cdot m \cdot \sin(\omega t) = C \cdot m \cdot \sin(\omega t) \quad (2.4.6)$$

Wie schon aus der Definition der Linearität hervorgeht, treten keine Verzerrungen der Antwort auf; die Antwort $y(t)$ ist proportional zum Reiz $x(t)$.

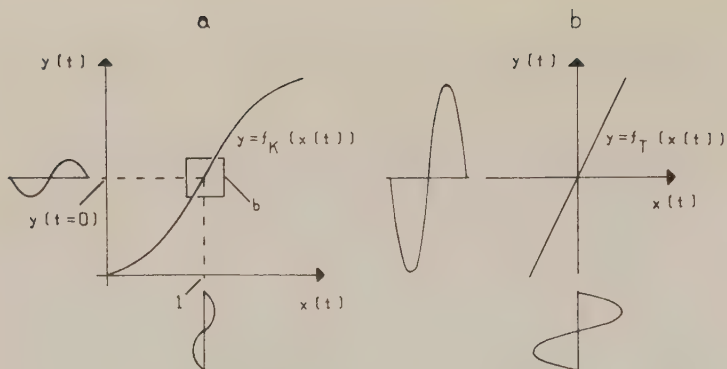


Abb. 2.4.1: Zusammenhang zwischen den Funktionen $y=f_K(x(t))$ (Teilbild a) und $y=f_T(x(t))$ (Teilbild b); Teilbild b entspricht dem in Teilbild a angegebenen Ausschnitt.

Da sich jeder Kurvenzug durch Geradenstückchen nähern läßt, wird mit kleiner werdendem Modulationsgrad auch für gekrümmte Kennlinien der lineare Zusammenhang immer besser erreicht. Diese Methode wird als klassische Linearisierung bezeichnet und ist in /Starkemann, 1970/ beschrieben. Anschaulich ist dieses Verfahren in Abb. 2.4.2 dargestellt.

Man erkennt, daß die Form der Kennlinie $y = \log_b x$ mit abnehmendem Modulationsgrad linearisiert wird.

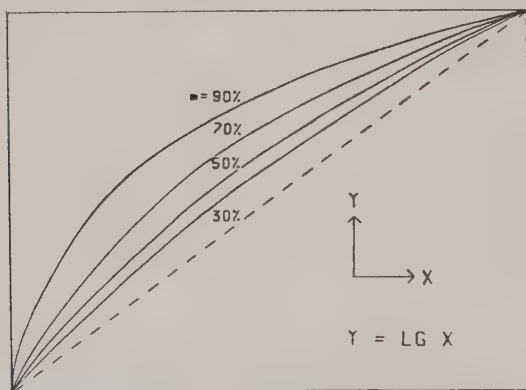


Abb. 2.4.2: Kennlinienform in Abhängigkeit vom Modulationsgrad m ; Die Kennlinienstücke sind auf die Reizdifferenz $x_{\max} - x_{\min}$ normiert.

Die Methode der linearen Näherung durch kleine Signale ist mit dem Nachteil behaftet, daß gleichzeitig die Systemreaktion kleiner wird und sich damit das Signal / Rausch-Verhältnis vergrößert. Im allgemeinen kann man daher die Modulation nicht so klein machen, daß Reiz und Antwort linear abhängig sind. Deshalb sind zur Näherung des benötigten Kennlinienstückes weitere Glieder der Taylor-Entwicklung nötig. Wie diese Glieder den linearen Zusammenhang beeinflussen, soll nachfolgend untersucht werden.

Das quadratische Glied der Taylor-Reihe lautet:

$$G^2 = \frac{1}{2} f_K''(x=1) \cdot (m \cdot \sin(\omega t))^2 \sim m^2 \cdot \sin(\omega t)^2 \quad (2.4.7)$$

Mit Hilfe der trigonometrischen Umformungen läßt sich schreiben:

$$G^2 \sim \frac{1}{2} m^2 - \frac{1}{2} m^2 \cdot \cos(2\omega t) \quad (2.4.8)$$

Aus diesem Zusammenhang (2.4.8) erkennt man, daß die quadratische Verzerrung folgende Auswirkungen hat:

- 1) Die Antwort $y(t)$ erhält einen zusätzlichen zeitunabhängigen Beitrag ($\sim 1/2 m^2$). Dieser Anteil ist vernachlässigbar, da nur der zeitabhängige Anteil interessiert.
- 2) Die Antwort $y(t)$ erhält einen zusätzlichen zeitabhängigen Beitrag ($\sim 1/2 m^2 \cos(2\omega t)$). Dieser Anteil ist eine gegenüber der linearen Sinuskomponente zum Zeitpunkt $t=0$ um 90° verschobene Schwingung mit der doppelten Frequenz. Die Amplitude dieser Schwingung ist einmal proportional zum Quadrat des Modulationsgrades; zum anderen ist sie von der 2. Ableitung der Kennlinie im Arbeitspunkt linear abhängig.

In Abb. 2.4.3 sind jeweils zu einer Sinusschwingung der Frequenz $f = \frac{\omega}{2\pi}$ (Grundschwingung) eine unterschiedlich große Cosinusschwingung der doppelten Frequenz (1. Oberschwingung = 2. Harmonische) addiert. Dabei sieht man, daß für nicht zu große Amplituden der 2.

Harmonischen¹⁾ die Antwortgröße des Summensignals gleich der Amplitude der Grundschwingung ist (Abb. 2.4.3a,b).

Für die Modulation an einer Kennlinie bedeutet dies also, daß die Antwortgröße (= Spitze-Spitze-Signal) gegenüber dem linearen Fall auch bei einer quadratischen Verzerrung erhalten bleibt, wenn diese Verzerrung einen bestimmten Wert V nicht überschreitet.

Wird die quadratische Verzerrung über diesen Wert erhöht (Abb. 2.4.3c), so zeigt das Summensignal weitere Extrema. Dann führt die Bestimmung der Antwortgröße aus der Differenz der Extremwerte zu einer anderen Amplitude. Dieser Effekt tritt bei einer Relativamplitude $m > 25\%$ der 2. Harmonischen auf.

Das läßt sich wie folgt zeigen:

Die (normierte) Summenfunktion lautet:

$$f(x) = \sin x + m \cdot \cos 2x \quad (2.4.9)$$

Die Extrema ergeben sich aus der Bedingung, daß die 1. Ableitung der Funktion verschwindet:

$$f'(x) = 0 = \cos x - 2m \cdot \sin 2x = \cos x (1 - 4m \cdot \sin x) \quad (2.4.10)$$

Für $\cos x = 0$ folgen 2 Extrema an den Stellen $x = 90^\circ$ und $x = 270^\circ$ (Abb. 2.4.3a-c).

Für weitere Extrema gilt:

$$1 - 4m \cdot \sin x = 0 \quad \text{oder} \quad \sin x = \frac{1}{4m} \quad (2.4.11)$$

Da die Größe $\sin x \leq 1$ sein muß, folgt für das Auftreten weiterer Extrema die Bedingung $m \geq 0.25$.

1) In der Literatur ist die Bedeutung des Grades einer Harmonischen nicht einheitlich. In dieser Arbeit wird folgende Definition verwendet: Der Grad der Harmonischen gibt das Frequenzverhältnis von Ober- zu Grundschwingung an.

Dennoch erhält man auch in diesem Fall die lineare Antwortgröße direkt aus dem Summensignal, wenn die Differenz der Extrema an den Stellen $x=90^\circ$ und $x=270^\circ$ gebildet wird. Komplizierter wird es nur bei zusätzlich auftretenden Phasenverschiebungen zwischen linearem und quadratischem Anteil (Abb. 2.4.3d). Obwohl auch hier noch die lineare Amplitude direkt aus dem Summensignal bestimmbar ist (siehe Abbildung), ist es in der Praxis einfacher, das Summensignal Fourier-analytisch in die Harmonischen zu zerlegen.

Baron de Fourier entdeckte um 1810, daß sich jedes periodische Signal durch die Addition von Sinus- und Cosinusschwingungen (= Harmonische) unterschiedlicher Frequenz und Amplitude darstellen läßt. Umgekehrt ermöglicht es die Fourier-Analyse, aus einem beliebigen periodischen Signal (wie z. b. der quadratisch verzerrten Antwort auf einen Sinusreiz) die Amplituden und Phasenlagen der linearen, quadratischen und eventuell höheren Anteile zu bestimmen. Eine verständliche Einführung zu diesem Verfahren findet sich in /Sirk, Draeger, 1972/.

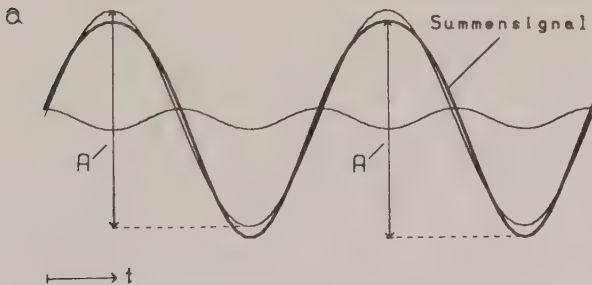


Abb. 2.4.3: Die Addition von Grund- und 1. Oberschwingung bei verschiedenen Amplitudenverhältnissen und Phasenlagen; Die Antwortgröße A (= Amplitude der Grundschwingung) bleibt erhalten.

a) Relative Größe der 2. Harmonischen: $m=10\%$; Phasendifferenz zum Zeitpunkt $t=0$: $dq=90^\circ$.

Teilbilder b) - d) siehe nächste Seite.

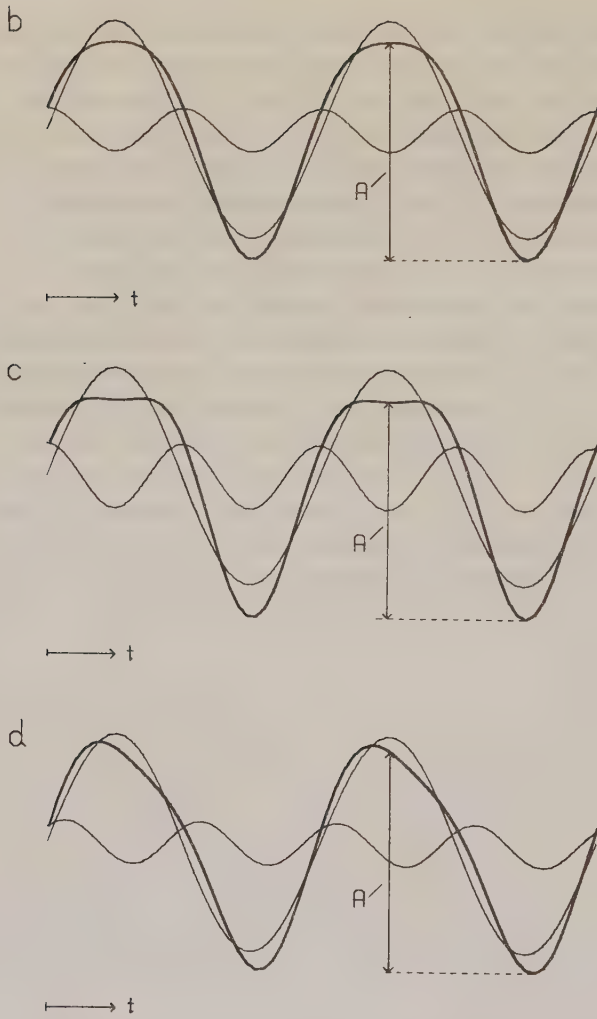


Abb. 2.4.3: Die Addition von Grund- und 1. Oberschwingung bei verschiedenen Amplitudenverhältnissen und Phasenlagen;
b) Relative Größe der 2. Harmonischen: $m=20\%$; Phasendifferenz zum Zeitpunkt $t=0$: $dq=90^\circ$.
c) $m=30\%$; $dq=90^\circ$
d) $m=20\%$; $dq=45^\circ$

Bisher wurde gezeigt, daß auch bei einer quadratischen Verzerrung die zur linearen Näherung gehörige Antwortgröße ohne Fehler bestimmt werden kann. Anders wird dies jedoch, wenn die Taylor-entwicklung im Arbeitspunkt der Kennlinie höhere Glieder als das quadratische enthält:

Das kubische Glied der Taylorentwicklung lautet (siehe Gleichung 2.4.4):

$$G^3 = \frac{1}{6} f_K'''(x=1) \cdot (m \cdot \sin(\omega t))^3 \sim m^3 \cdot \sin(\omega t)^3 \quad (2.4.12)$$

Durch Umformung mittels trigonometrischer Formeln folgt die Beziehung:

$$G^3 \sim m^3 \cdot \left(\frac{3}{4} \sin(\omega t) - \frac{1}{4} \sin(3\omega t) \right) \quad (2.4.13)$$

Aus diesem Zusammenhang (2.4.13) erkennt man, daß die kubische Verzerrung folgende Auswirkungen hat:

- 1) Der lineare Antwortanteil wird durch einen Zusatzbeitrag verändert, der mit der 3. Potenz des Modulationsgrades wächst. Damit ist keine Proportionalität mehr vorhanden zwischen Reiz und linearem Antwortanteil, wie es die lineare Näherung fordert.
- 2) Die Antwort $y(t)$ erhält einen sinusförmigen Beitrag der 3-fachen Frequenz des Reizsignals.
- 3) Die kubische Verzerrung wächst kubisch mit dem Modulationsgrad an und linear mit der 3. Ableitung der Kennlinie im Arbeitspunkt.

Wenn man also ein an einer komplexen Kennlinie verzerrtes Reizsignal Fourier-analytisch untersucht, erhält man wiederum einen linearen Beitrag (1. Harmonische) und weitere höhere Anteile (höhere Harmonische). Dieser lineare Beitrag ist jedoch nicht gleichzusetzen mit der in linearer Näherung gewonnenen Antwort des Systems.

Analog zu den bisher durchgeführten Betrachtungen lassen sich auch die höheren Glieder einer Taylor-Reihe entwickeln. Dabei zeigt sich, daß Glieder mit gerader Potenz α einen zeitunabhängigen Beitrag und weitere Beiträge zu allen geradzahligen Harmonischen bis zum Grad α liefern.

Glieder mit ungeradzahligen Potenzen β tragen zu allen ungeradzahligen Harmonischen (und damit auch zur Grundschiwingung) bis zum Grad β bei.

Zusammenfassend läßt sich also sagen:

Für den Reiz-Antwort-Zusammenhang ist bei sinusförmiger Modulation um einen Arbeitspunkt x ein vom Modulationsgrad m abhängiges Kennlinienstück verantwortlich.

Dieses Kennlinienstück kann durch eine Taylorentwicklung um den Arbeitspunkt beschrieben werden. Bei einer linearen Kennlinie bricht die Taylor-Reihe nach dem 2. Glied ab. Mit zunehmender Nichtlinearität und zunehmendem Modulationsgrad werden weitere Glieder der Taylor-Reihe zur Darstellung des Kennlinienstückes benötigt. Dennoch bleiben Reiz und lineare Antwortgröße zueinander proportional, solange das Kennlinienstück sich durch eine quadratische Taylor-Reihe (Entwicklung bis zum 3. Glied der Formel 2.4.4) darstellen läßt.

Einige (willkürlich ausgewählte) quadratische Kennlinienstücke sind in Abb. 2.4.4 aufgetragen. Jede dieser Funktionen erfüllt die Linearitätsbedingung zwischen Reiz und Fourier-analytisch ermittelter linearer Antwort.

Anders ausgedrückt, ist die im Kapitel 2.3 zur Herleitung des Zusammenhangs zwischen Modulations- und Rechteckkennlinie verwendete lineare Näherung immer dann erlaubt, wenn sich das vom Modulationsgrad abhängige benötigte Kennlinienstück durch einen quadratischen Kurvenzug (z. B. gemäß Abb. 2.4.4) annähern läßt.

Erst in kubischer Näherung, d. h. Entwicklung der Taylor-Reihe bis zum 4. Glied, wird der lineare Zusammenhang zwischen Reiz und linearer Antwort verzerrt.

Auf die hier getroffenen Aussagen wird im weiteren Verlauf der Arbeit zurückgegriffen werden, z. B. bei der Beurteilung der Kennlinien biologischer Objekte oder bei der Bewertung des Verfahrens FIS zur Bestimmung der spektralen Empfindlichkeit.

Deshalb sollen sie im nächsten Kapitel noch einmal experimentell belegt werden.

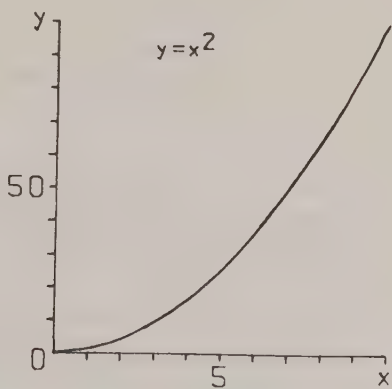
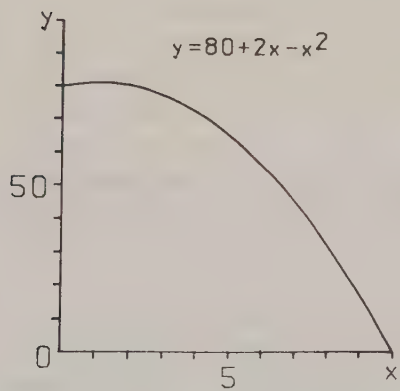
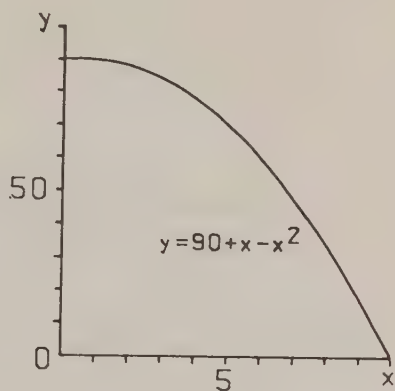
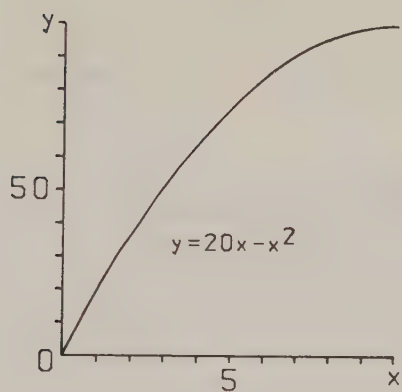
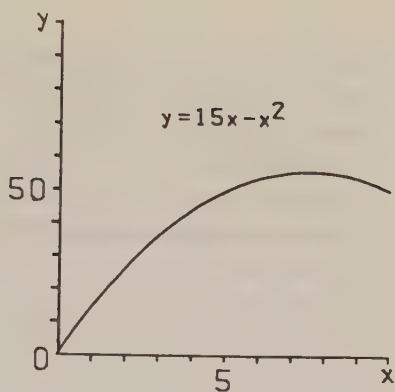
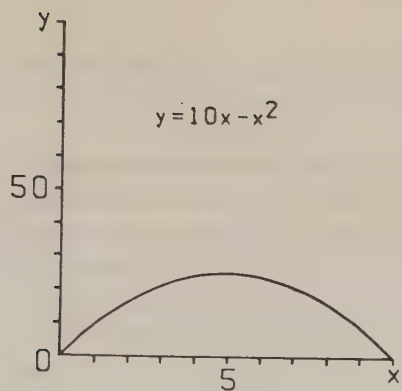


Abb. 2.4.4: Beispiele für quadratische Kennlinienstücke;

2.5 Die Reiz-Antwort-Beziehung in Abhängigkeit von der Kennlinienform; experimentelle Befunde

Im folgenden sollen die im letzten Kapitel getroffenen theoretischen Aussagen durch rechnerische Simulation bestätigt werden. Als erstes wird dazu die logarithmische Verzerrung eines sinusförmigen Reizes betrachtet.

In Abb. 2.5.1 ist gestrichelt die Funktion $y = \log_{10} x$ für den Definitionsbereich $1 \leq x \leq 20$ dargestellt. Für die Größe $x(t)$ wurde die Funktion $x(t) = 11 + 9 \cdot M \cdot \sin(\omega t)$ mit $0 \leq M \leq 1$ gewählt (M = Modulationsgröße).

Dies entspricht einem sinusförmigen Reiz um den Arbeitspunkt $\bar{x} = 11$ einer log-Kennlinie mit einem maximalen Modulationsgrad $m \approx 82\%$.

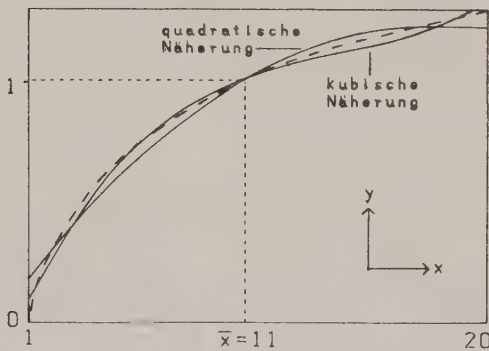


Abb. 2.5.1: Die Kennlinienfunktion $y = \log_{10} x$ (gestrichelt) und ihre quadratische und kubische Näherung im Definitionsbereich $1 \leq x \leq 20$. Mit $\bar{x} = 11$ ist der Arbeitspunkt bezeichnet, um den die Reizgröße x sinusförmig moduliert wird.

In Abhängigkeit von der Modulationsgröße M wurde für eine Periode die Antwort $y(t)$ durch Logarithmierung errechnet und anschließend einer Fourier-Analyse unterzogen. Bei der Maximalmodulation ($m = 82\%$)

treten Anteile bis zur 8. Harmonischen auf. Die Taylor-Reihe gemäß Formel 2.4.4 muß also minimal aus 9 Gliedern bestehen, um die log-Funktion bei einem Modulationsgrad von 82% befriedigend anzunähern.

Wenn man den Modulationsgrad jedoch auf die Hälfte verringert, wird die Amplitude der 8. Harmonischen auf $0.5^8 \approx 4/1000$ reduziert. Dann sind nur noch die ersten 4 Harmonischen auswertbar; die das Kennlinienstück annähernde Taylor-Reihe besteht somit aus 5 Gliedern.

Hier soll nach /Varjú, 1977/ der Klirrfaktor K definiert werden, der ein Maß für die Verzerrung einer Kennlinie ist:

$$K = \frac{\sum_{i=2}^{\infty} A_i^2}{\sum_{i=1}^{\infty} A_i^2} \quad (2.5.1)$$

wobei A_i die Amplitude der i-ten Harmonischen ist.

Im Zähler wird also über alle Amplitudenquadrate der Oberschwingungen summiert, im Nenner wird in der Summe zusätzlich noch die Grundschwingung berücksichtigt.

In Tab. 2.5.1, Zeile 1 und 2 sind die (relativen) Amplituden der durch Verzerrung an der log-Kennlinie erzeugten Harmonischen und der daraus berechnete Klirrfaktor für die Modulationsgrade $m = 82\%$ und $m = 41\%$ tabelliert. Vielleicht verwundert dabei auf den ersten Blick, daß bei der Halbierung des Modulationsgrades nicht gleichzeitig die Amplituden der n-ten Harmonischen um den Faktor 0.5^n abnehmen. Dies ist aber verständlich, da ja jeweils höhere Harmonische der Ordnung $n + 2$, $n + 4$, ... noch einen modulationsabhängigen Beitrag zur n-ten Harmonischen liefern.

Kennlinie	Modulationsgrad	Amplituden (%) der Harmonischen								Klirrfaktor
		1	2	3	4	5	6	7	8	
logarithmisch	82%	100	26	9	3.5	1.5	0.6	0.3	0.1	0.27
	41%	41	4.5	0.6	0.1	-	-	-	-	0.11
quadratisch	82%	100	31.6	-	-	-	-	-	-	0.30
	41%	50	7.9	-	-	-	-	-	-	0.16

Tab. 2.5.1: Relative Amplituden der Harmonischen bei logarithmischer und quadratischer Kennlinie.

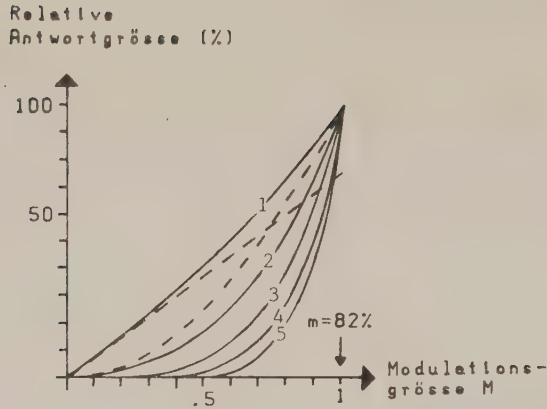


Abb. 2.5.2: Modulationsgradabhängigkeit der 1. bis 5. Harmonischen bei einer logarithmischen Kennlinie;
Gestrichnet: Linearer bzw. quadratischer Zusammenhang.

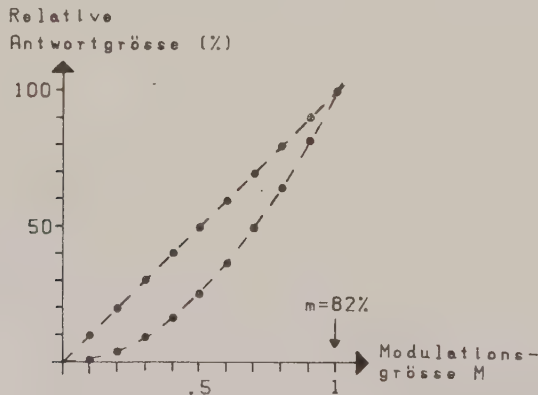


Abb. 2.5.3: Modulationsgradabhängigkeit der 1. bzw. 2. Harmonischen bei einer quadratischen Kennlinie;
Punkte: Fourier-analytisch ermittelte Meßwerte; gestrichelt: theoretischer linearer bzw. quadratischer Zusammenhang.

In Abb. 2.5.2 sind die jeweils auf das Maximum normierten Amplituden der ersten 5 Harmonischen in Abhängigkeit der Modulationsgröße M aufgetragen.

Wie nach den Aussagen von Kapitel 2.4 zu erwarten, ist die Proportionalität zwischen linearer Antwort und Reiz nur bei kleiner Modulation gewährleistet. Mit wachsendem Modulationsgrad wird die Amplitude der Grundschiwingung immer stärker durch Verzerrungsbeiträge verfälscht. Aber auch die höheren Harmonischen werden verzerrt. Wie aus Kapitel 2.4 ersichtlich, sollten z. B. bei einer kubischen Kennlinie (Entwicklung der Taylor-Reihe nach Formel 2.4.4 bis zum 4. Glied) die 2. Harmonische quadratisch und die 3. Harmonische kubisch mit dem Modulationsgrad m anwachsen. Obwohl in Abb. 2.5.2 die höheren Harmonischen mit zunehmender Ordnung n immer stärker gekrümmt sind, zeigen sie nur in Näherung die M^n -Abhängigkeit. Dies folgt, wie schon oben erwähnt, aus der Rückwirkung höherer Harmonischer, die bei der log-Kennlinie in Abhängigkeit vom Modulationsgrad auftreten können.

Wenn im obigen Beispiel die Modulation an der log-Kennlinie kleiner als $M = 0.3$ (entsprechend einem Modulationsgrad $m = 25\%$) gewählt wird, können kubische und höhere Anteile vernachlässigt werden. Nach den Aussagen von Kapitel 2.4 sollte es dann möglich sein, einen linearen Reiz-Antwort-Zusammenhang bezüglich der 1. Harmonischen, und einen quadratischen Zusammenhang bezüglich der 2. Harmonischen zu erhalten.

Als quadratische Kennlinie für die Simulation wurde die numerisch ermittelte quadratische Ausgleichskurve der log-Funktion für den Definitionsbereich $1 \leq x \leq 20$ gewählt. Diese Funktion ist in Abb. 2.5.1 durchgezogen dargestellt und hat folgende analytische Form:

$$y = 1.0 + 0.059 \cdot (10 - x) - 0.0037 \cdot (10 - x)^2 \quad (2.5.2)$$

Wie im obigen Beispiel wurde für x die zeitabhängige Funktion $x(t) = 11 + 9 \cdot M \cdot \sin(\omega t)$ gewählt und für eine Periode die Antwort $y(t)$ berechnet. Wird diese Antwort $y(t)$ Fourier-analysiert, treten nur 2 zeitabhängige Komponenten, die 1. und 2. Harmonische, auf. Ihre relativen Amplituden bei den Modulationsgraden $m = 82\%$ bzw. $m = 41\%$ sind in Tab. 2.5.1 eingetragen. Aufgrund dieser Werte er-

kennt man schon den Unterschied zum logarithmischen Zusammenhang:

Wie erwartet, verhalten sich die linearen Amplituden wie 1:2, die quadratischen wie 1:4. Obwohl also der Klirrfaktor der quadratischen Kennlinie den der logarithmischen übersteigt, bleibt die Proportionalität zwischen Reiz und linearer Antwort erhalten.

Dies ist noch einmal in Abb. 2.5.3 dargestellt. Hier sind die 1. und 2. Harmonische in Abhängigkeit von der Größe der Modulation aufgetragen. Im Fall der quadratischen Kennlinie wächst die Amplitude der 1. Harmonischen exakt linear, die der 2. Harmonischen exakt quadratisch mit dem Modulationsgrad.

In der Tat gilt dieses Ergebnis für alle quadratischen Kennlinien mit beliebig hoher Verzerrung, solange die Kennlinie einen linearen Anteil enthält¹⁾. Dies wurde experimentell für verschiedene Klirrfaktoren überprüft. Abschließend soll erwähnt werden, daß neben der rechnerischen Simulation zusätzlich Experimente mit dem Modellsystem "Photoelement" durchgeführt wurden. Dazu wurde ein sinusförmig modulierter Lichtreiz an der logarithmischen Kennlinie verzerrt und die Antwort Fourier-analysiert. Die so ermittelten Ergebnisse zeigen im Rahmen der Meßgenauigkeit keine Abweichung von der rechnerischen Simulation und werden deshalb hier nicht vorgestellt.

Zusammenfassend soll also festgehalten werden, daß die in Kapitel 2.4 aufgrund theoretischer Überlegungen getroffenen Vorhersagen voll durch die Experimente bestätigt werden.

1) Im Fall der rein quadratischen Kennlinie (z. B. Modulation um den Nullpunkt der Funktion $y = x^2$) verschwindet das lineare Glied der Taylor-Reihe. Damit wird die Antwort in linearer Näherung gleich 0 für jeden Modulationsgrad. Der Klirrfaktor ist für diesen Fall maximal und gleich 1.

2.6 Zusammenfassung: Einzelsinusreize am Modellsystem

Um den Einfluß eines nichtlinearen (Seh-)Systems auf komplexe (Licht-)Reize zu klären, erschien es mir sinnvoll, zuerst das Verhalten eines Modells auf Einzelsinusreize zu betrachten. Als Modellsystem wurde ein Halbleiter-Photoelement mit nachgeschalteter Elektronik verwendet. Dieses System ist im Gegensatz zum biologischen Objekt stabil und physikalisch leicht faßbar. Je nach Beschaltung und Reizstärke hat es eine lineare bzw. logarithmische Reiz-Antwort-Beziehung. Diese Kennlinien sind durch Rechteckreizung mit definierten Reizlichtintensitäten ermittelbar.

Wenn man um ein mittleres Intensitätsniveau $\bar{x}$ den Reiz sinusförmig moduliert, erhält man in linearer Näherung eine sinusförmige Antwort. Diese auf den Reiz normierte Antwort ist proportional zur Steigung der Kennlinie im Arbeitspunkt $\bar{x}$. Die Abhängigkeit der normierten sinusförmigen Antworten von der mittleren Intensität $\bar{x}$, die Modulationskennlinie, stellt deshalb die funktionelle Ableitung der Rechteckkennlinie dar. Damit wurde eine weitere Methode zur Bestimmung der Kennlinie gefunden, die auf der Anwendung modulierter Reize beruht. Die oben angesprochene lineare Näherung wird immer mit kleiner Modulation erreicht, da sich jede nichtlineare Kennlinie durch kleine Geradenstücke annähern läßt. Für größere Modulationen wird die Antwort je nach dem Grad der Nichtlinearität verzerrt.

Wie jedoch gezeigt wurde, ist die lineare Näherung auch dann gültig, wenn sich das durch die Modulation betroffene Kennlinienstück durch eine Taylor-Reihe bis zum quadratischen Glied darstellen läßt. Mittels der Fourier-Analyse (oder unter bestimmten Bedingungen direkt) ist es dann noch möglich, die linearen Antwortkomponenten fehlerfrei zu bestimmen, unabhängig vom Grad der quadratischen Verzerrung.

Am Beispiel der logarithmischen Kennlinie wurde gezeigt, daß die quadratische Kennliniennäherung bis zu einem Modulationsgrad $m \sim 30\%$ gut anwendbar ist. Für die lineare Kennliniennäherung muß der Modulationsgrad auf weniger als 10% beschränkt werden. Erhöht man den

Modulationsgrad über 30%, läßt sich das durch den Reiz betroffene Kurvenstück der logarithmischen Kennlinie nicht mehr befriedigend durch eine quadratische Entwicklung darstellen.

Enthält die Taylor-Entwicklung eines Kennlinienstückes höhere Glieder als das quadratische, so läßt sich aus der verzerrten Antwort keine lineare Reiz-Antwort-Beziehung mehr ermitteln. Die mittels Fourier-Analyse gefundene lineare Komponente wird durch höhere Glieder modulationsgradabhängig amplitudenverzerrt. Damit ist keine Proportionalität zwischen Reiz und linearer Antwort mehr vorhanden.

Ein lineares System läßt sich durch die Gültigkeit des Superpositionsprinzips beschreiben /Starkemann, 1970/. Dieses Prinzip besagt, daß die Addition zweier Reize $x_1(t)$ und $x_2(t)$ zu einer Antwort $y(t)$ führt, die gleich der Summe der Einzelantworten $y_1(x_1)$ und $y_2(x_2)$ ist.

Bezüglich der linearen Antwortkomponenten ist somit auch ein System mit einer durch eine quadratische Funktion beschreibbaren Kennlinie linear, da sich zwei zum Modulationsgrad $m/2$ gehörige Antworten zu der zum Modulationsgrad m gehörigen Antwort addieren. Für ein stärker verzerrtes System wird das Superpositionsprinzip ungültig. Das System verhält sich nichtlinear.

Es wird sich im weiteren Verlauf dieser Arbeit zeigen, daß die untersuchten biologischen Sehsysteme Kennlinien aufweisen, die sich sehr gut durch quadratische Funktionen nähern lassen. Deshalb wird in den nachfolgenden Kapiteln noch öfters auf die bisher gemachten Aussagen zurückgegriffen werden.

3. Komplexer Sinusreiz am Modellsystem

3.0 Einführung

Im vorangegangenen Abschnitt wurde der Einfluß der Übertragungscharakteristik auf einen Einzelsinusreiz betrachtet.

Hier im 3. Abschnitt soll nun die Wirkung auf einen komplexen Sinusreiz untersucht werden, da diese Reizform bei der Methode FIS eine Rolle spielt.

Ein komplexer Sinusreiz entsteht durch Superposition mehrerer Einzelsinusreize, die unterschiedliche Frequenz, Amplitude und Phasenlage haben können.

Aus der Definition des Systems mit linearer Kennlinie folgt, daß sich die Antwort auf einen komplexen Reiz aus den Antworten auf die Einzelreize addiert. Deshalb wird das System mit linearer Kennlinie nachfolgend nicht weiter berücksichtigt.

Wenn man die durch eine nichtlineare Kennlinie verzerrte Antwort auf einen komplexen Reiz Fourier-analytisch untersucht, erhält man außer den bereits besprochenen höheren Harmonischen der Grundschwingung weitere Antwortanteile. Diese lassen sich durch Mischung (Addition und Subtraktion) der Reizfrequenzen erzeugen, wie die folgenden Kapitel zeigen werden.

Im einfachsten Fall besteht der komplexe Sinusreiz nur aus zwei Komponenten unterschiedlicher Frequenz und Amplitude. Der Einfluß einer Nichtlinearität auf diese Signalform wird im nächsten Kapitel untersucht.

3.1 Wechselwirkung zweier Sinusreize im Fall einer nichtlinearen Kennlinie

Addiert man zwei sinusförmige Reizkomponenten mit den Amplituden a_1 bzw. a_2 , den Frequenzen $f_1 = \frac{\omega_1}{2\pi}$ bzw. $f_2 = \frac{\omega_2}{2\pi}$ und einer Phasendifferenz q , so erhält man folgende Reizfunktion:

$$x(t) = a_1 \cdot \sin(\omega_1 t) + a_2 \cdot \sin(\omega_2 t + q) \quad (3.1.1)$$

Die Funktion $x(t)$ beschreibt die Modulation um den Arbeitspunkt P bei Vernachlässigung des zu P gehörigen zeitunabhängigen Reizanteils $\bar{x}$.

Die Taylor-Entwicklung der Kennlinie in diesem Arbeitspunkt lautet (ebenfalls bei Vernachlässigung zeitunabhängiger Glieder):

$$y(t) = f'_K(P) \cdot x(t) + \frac{1}{2} f''_K(P) \cdot x(t)^2 + \frac{1}{6} f'''_K(P) \cdot x(t)^3 +$$

+ höhere Glieder (3.1.2)

Dabei bezeichnet $f_K^{(n)}(P)$ die n -te Ableitung der Kennlinienfunktion im Arbeitspunkt P .

Das lineare Glied bleibt im weiteren unberücksichtigt, da es den Reiz $x(t)$ nicht verzerrt. Im Fall einer linearen Taylor-Funktion lassen sich durch Fourier-Analyse aus der dazugehörigen Antwort $y(t)$ die unverzerrten Frequenzkomponenten ermitteln.

Das quadratische Glied erzeugt einen Antwortbeitrag G^2 . Für diesen läßt sich mit Gleichung 3.1.1 bei Vernachlässigung der konstanten Faktoren schreiben:

$$G^2 \sim x(t)^2 = a_1^2 \cdot \sin(\omega_1 t)^2 + a_2^2 \cdot \sin(\omega_2 t + q)^2 +$$

$+ 2a_1 a_2 \cdot \sin(\omega_1 t) \cdot \sin(\omega_2 t + q) \quad (3.1.3)$

Die ersten beiden Glieder der Gleichung 3.1.3 bezeichnen die rein quadratischen Antwortanteile der Einzelsinusreize. Diese wurden schon im Abschnitt 2 behandelt.

Neu hinzu kommt der Anteil:

$$G_m^2 \sim 2a_1 a_2 \cdot \sin(\omega_1 t) \cdot \sin(\omega_2 t + q) \quad (3.1.4)$$

Der Beitrag G_m^2 läßt sich mit Hilfe trigonometrischer Formeln umformen:

$$\begin{aligned}
 G_m^2 &\sim 2a_1a_2 \cdot \sin(\omega_1 t) \cdot \{\sin(\omega_2 t) \cdot \cos q + \cos(\omega_2 t) \cdot \sin q\} = \\
 &= a_1a_2 \cdot (\cos q) \cdot \{\cos(\omega_1 - \omega_2)t - \cos(\omega_1 + \omega_2)t\} + \\
 &+ a_1a_2 \cdot (\sin q) \cdot \{\sin(\omega_1 - \omega_2)t + \sin(\omega_1 + \omega_2)t\} \quad (3.1.5)
 \end{aligned}$$

Es zeigt sich also, daß durch das Glied G_m^2 Antwortanteile entstehen, die auf eine Frequenzmischung der Reizfrequenzen zurückzuführen sind.

Als Beispiel hierfür wurde eine Verzerrung durch die Kennlinienfunktion $y = x^2$ betrachtet. An dieser Funktion wurde um den Arbeitspunkt ($x=6$) mit einer Maximalamplitude $A = |a_1| + |a_2| = 5$ moduliert. Der Modulationsreiz enthielt die Komponenten mit den Amplituden $a_1 = 2$ bzw. $a_2 = 3$ und dem Frequenzverhältnis $\frac{f_1}{f_2} = \frac{6}{8}$.

Beide Komponenten starteten zum Zeitpunkt $t=0$ sinusförmig. Die Signallänge betrug für die 1. Komponente 6 Perioden, für die 2. Komponente 8 Perioden. Dies entspricht genau einer Schwebungsperiode der beiden Frequenzen.

Dieser Reiz wurde über die Taylor-Entwicklung $y = 36 + 12x + x^2$ im Punkt $x = 6$ der Kennlinienfunktion $y = x^2$ in die Antwort transformiert.

In Abb. 3.1.1 ist das Fourier-analytisch berechnete Amplitudenspektrum dieser Antwort dargestellt¹⁾.

Wie erwartet treten für jede Grundschwingung separat die 2. Harmonischen auf. Zusätzlich finden sich 2 weitere Anteile an den durch Summen- bzw. Differenzbildung gegebenen Frequenzen. Solche Mischteile werden als Intermodulationen bezeichnet.

1) In dieser Arbeit werden als Frequenzwerte immer nur dimensionslose ganze Zahlen verwendet. Dies bedeutet keine Einschränkung der Allgemeingültigkeit, wenn man berücksichtigt, daß sich jede Frequenz durch eine geeignete Normierung in eine dimensionslose Größe, den Frequenzindex, verwandeln läßt (zum Frequenzindex siehe auch Kapitel 4.2).

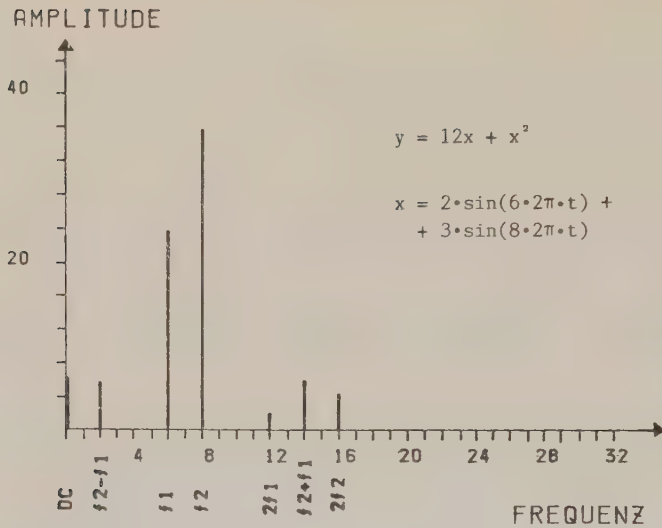


Abb. 3.1.1: Antwortspektrum bei quadratischer Verzerrung;
Der Gleichanteil der Taylor-Entwicklung wurde vernachlässigt.

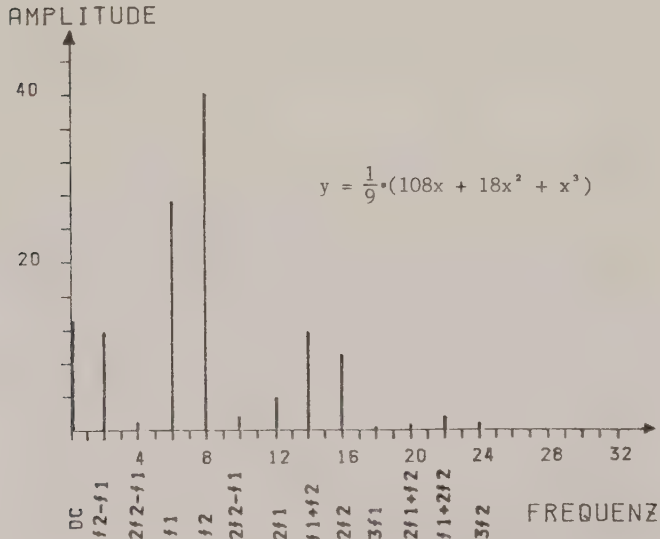


Abb. 3.1.2: Antwortspektrum bei kubischer Verzerrung;
Der Gleichanteil der Taylor-Entwicklung wurde vernachlässigt;
Zum Vergleich mit Abb. 3.1.1 wurde mit dem Faktor 1/9 skaliert.

Die durch Fourier-Analyse ermittelten Amplituden stimmen exakt mit den analytisch nach Formel 3.1.2 berechneten Werten überein; vor allem ist wieder zu beachten, daß das Amplitudenverhältnis der 1. Harmonischen durch die Verzerrung nicht verfälscht worden ist (quadratische Kennlinie!).

Enthält die Taylor-Entwicklung höhere Glieder als das quadratische, so treten neben den in Abschnitt 2 besprochenen Oberschwingungen der Einzelreize auch noch Anteile bei Mischfrequenzen höherer Ordnungen auf. Dies kann man durch die trigonometrische Umformung höherer Reihenglieder der Formel 3.1.2 zeigen.

Wird z. B. an einer kubischen Kennlinie ein 2-komponentiger Reiz transformiert, erhält man folgende Frequenzanteile:

- a) Die Grundschrwingungen der Frequenzen f_1 und f_2
- b) Die durch das quadratische Glied erzeugten 2. Harmonischen $2f_1$ und $2f_2$
- c) Die durch das quadratische Glied erzeugten Intermodulationen $f_1 \pm f_2$ (Intermodulationen 2. Ordnung)
- d) Die durch das kubische Glied erzeugten 3. Harmonischen $3f_1$ und $3f_2$
- e) Die durch das kubische Glied erzeugten Intermodulationen $2f_1 - f_2$, $f_1 - 2f_2$, $2f_1 + f_2$ und $f_1 + 2f_2$ (Intermodulationen 3. Ordnung)

Zu beachten ist dabei, daß z. B. die Amplituden der Grundschrwingungen sich aus mehreren Beiträgen zusammensetzen:

- a) Beitrag durch das lineare Glied der Reihenentwicklung
- b) Beitrag durch das kubische Glied der Reihenentwicklung auf 2 Arten:
 - b1) Schon im Abschnitt 2 besprochener Beitrag des Gliedes $G^3 \sim \sin(\omega_K t)^3$
 - b2) Ein durch das Mischglied $G_m^3 \sim \sin(\omega_1 t)^2 \cdot \sin(\omega_K t) =$

$(\frac{1}{2} - \frac{1}{2} \cdot \cos(2\omega_1 t)) \cdot \sin(\omega_K t)$ erzeugter Beitrag zur

$$\text{Frequenz } f_K = \frac{\omega_K}{2\pi}$$

Je nach Wahl der Frequenzen können auch die Amplituden der 2. Harmonischen und die Intermodulationen 2. Ordnung durch die Intermodulationen 3. Ordnung verfälscht werden.

In Abb. 3.1.2 ist das Amplitudenspektrum des an einer kubischen Kennlinie verzerrten Reizes dargestellt. Als Reiz wurden wieder 2 Komponenten mit der Amplitude $a_1 = 2$ bzw. $a_2 = 3$ und dem Frequenzverhältnis $f_1/f_2 = 6/8$ gewählt. Als Kennlinienfunktion wurde die Beziehung $y = x^3$ verwendet, die um den Punkt $x=6$ Taylor-entwickelt wurde:

$$y = 216 + 108x + 18x^2 + x^3$$

Wie man aus der Abb. 3.1.2 außerdem erkennen kann, ist die Proportionalität zwischen der Amplitude der Grundschiwingung und der Reizamplitude nicht mehr gewahrt.

Zusammenfassend soll also folgendes festgehalten werden:

Wird als Reizform die Superposition zweier Sinusreize unterschiedlicher Frequenz gewählt, treten bei einem nichtlinearen System neben den schon besprochenen Verzerrungskomponenten beim Einzelreiz zusätzlich weitere Nichtlinearitäten auf. Diese Nichtlinearitäten werden durch Frequenzmischung der beiden Einzelkomponenten verursacht und deshalb als Intermodulationen bezeichnet. Diese Intermodulationen können je nach Grad der Nichtlinearität Beiträge zu den durch Fourier-Analyse ermittelten 1. Harmonischen liefern und damit die Proportionalität zwischen Reiz und linearer Antwort (Amplitude der Grundschiwingung) zerstören.

Ähnlich wie beim Einzelsinusreiz bildet jedoch auch beim Doppelsinusreiz das System mit quadratischer Kennlinie eine Ausnahme. Die dabei auftretenden Mischfrequenzen beeinflussen nicht den linearen Zusammenhang zwischen Reizamplitude und Antwortamplitude der 1. Harmonischen.

Im nächsten Kapitel soll nun die Verallgemeinerung auf einen mehrkomponentigen Sinusreiz erfolgen. Es wird sich zeigen, daß die hier gemachten Aussagen ihre Gültigkeit behalten, wenn gewisse Einschränkungen bezüglich des Reizfrequenzbandes getroffen werden.

3.2 Einfluß einer nichtlinearen Kennlinie auf einen komplexen Sinusreiz

Ein komplexer Sinusreiz wird aus der Addition mehrerer Einzelsinuskomponenten erzeugt. Durch Addition von Sinuskomponenten lassen sich nach dem Prinzip der Fourier-Synthese beliebige (sich periodisch wiederholende) Reizfunktionen herstellen. Deshalb kann man auch die sich räumlich ändernde Intensität, die von einem lichtempfindlichen Objekt bei Bewegung registriert wird, als einen komplexen Sinusreiz auffassen.

Aber auch methodisch spielt der komplexe Sinusreiz eine wichtige Rolle. Er kann z. B. zur schnellen Bestimmung des Frequenzganges eines Systems dienen (Fritz, 1977; Victor et al., 1977). Dazu setzt man den Reiz aus mehreren Sinuskomponenten gleicher Amplitude, aber unterschiedlicher Frequenz zusammen und analysiert die Antwort eines Systems auf diesen Stimulus nach der Fourier-Zerlegung. Im Falle eines linearen Systems erhält man dann direkt die Frequenzabhängigkeit der Reizamplituden.

In ähnlicher Weise wird mit einem farbcodierten komplexen Sinusreiz die SE eines lichtempfindlichen Systems durch Anwendung der FIS-Methode ermittelt. Dieses Verfahren wird im Kapitel 4.2 besprochen.

Wie schon oben angedeutet, ist die Anwendung eines komplexen Sinusreizes auf ein lineares System unproblematisch. Der durch Superposition erzeugte Reiz wird linear in eine Antwort transformiert, die sich durch die Fourier-Analyse in ihre Harmonischen zerlegen läßt.

Nach den Überlegungen der vorangegangenen Kapitel läßt sich aber vermuten, daß die Fourier-Analyse für ein nichtlineares System Ergebnisse liefert, die nicht unkritisch zur Darstellung des Frequenzganges oder der SE benutzt werden dürfen.

Wie im vorangegangenen Kapitel gezeigt wurde, treten bei einem Doppelsinusreiz an einer quadratischen Kennlinie folgende Fourier-Komponenten bei der Antwortanalyse auf:

- 1) Die beiden Grundharmonischen der Frequenz f_1 und f_2

2) Die beiden 2. Harmonischen der Frequenz $2f_1$ und $2f_2$
3) Die beiden Mischanteile der Frequenz $f_2 - f_1$ und $f_1 + f_2$
Dabei verhalten sich die beiden Grundschrwingungen proportional zu den Reizkomponenten. Allerdings wurde implizit davon ausgegangen, daß die zusätzlichen Fourier-Komponenten (s. o. 2) und 3)) frequenzmäßig nicht mit den Grundschrwingungen zusammenfallen können. Dieser Punkt soll noch einmal näher betrachtet werden:

Wenn man die höhere Frequenz f_2 genau doppelt so groß wie die niedrigere Frequenz f_1 wählt, also $f_2 = 2f_1$, fällt die 2. Harmonische der Frequenz f_1 mit der 1. Harmonischen f_2 zusammen. Die 2. Harmonische der höheren Frequenz liegt trivialerweise höher als die Frequenzkomponente f_2 .

Dies gilt auch für die additiven Mischkomponenten $f_1 + f_2$ aufgrund der Ungleichung $f_1 + f_2 > f_2$ mit f_1 und $f_2 \geq 0$.

Im Fall der subtraktiven Komponente $f_2 - f_1$ gilt die Ungleichung $f_2 - f_1 < f_2$. Dies bedeutet, daß der Anteil $f_2 - f_1$ in jedem Fall unterhalb der Frequenz f_2 liegt. Damit kann er auch mit der Frequenz f_1 zusammenfallen. Dies gilt wieder für die Bedingung $f_2 = 2f_1$.

In Abb. 3.2.1a-c sind diese Befunde schematisch zusammengefaßt. Dabei wurden die Fälle $f_2 < 2f_1$, $f_2 = 2f_1$ und $f_2 > 2f_1$ unterschieden.

Aus den Abbildungen läßt sich erkennen, daß außer für den Sonderfall $f_2 = 2f_1$ bei einem Doppelsinusreiz die 1. Harmonischen der Fourier-Analyse nicht durch zusätzliche Komponenten gestört werden, die im Fall einer quadratischen Verzerrung auftreten.

Für einen komplexen Sinusreiz lassen sich ähnliche Überlegungen durchführen. Dazu werden als Frequenzen f_1 und f_2 die niedrigsten und die höchsten Frequenzkomponenten bezeichnet, die zu einem komplexen Sinusreiz beitragen. Anders ausgedrückt enthält der Reiz nur Komponenten, die frequenzmäßig im Bereich zwischen f_1 und f_2 liegen. Das Frequenzband der dazugehörigen 2. Harmonischen erstreckt sich damit von $2f_1$ bis $2f_2$.

Für die additiven Mischbeiträge ergeben sich folgende Frequenzbandgrenzen:

Die untere Grenze ist gegeben durch die Mischung der niedrigsten Frequenzkomponente f_1 und der nächsthöheren $f_1 + 1$; sie hat also den Wert $2f_1 + 1$.

Die obere Grenze ist gegeben durch die Mischung der höchsten Frequenzkomponente f_2 und der vorangehenden $f_2 - 1$; sie hat also den Wert $2f_2 - 1$.

Für die subtraktiven Mischbeiträge ergeben sich folgende Frequenzbandgrenzen:

Die untere Grenze ist gegeben durch die Mischung der zwei nächstbenachbarten Frequenzbeiträge; sind die Frequenzbeiträge durch aufeinanderfolgende $f_i = n \in \mathbb{N}$ ¹⁾ dargestellt, so hat die untere Grenze den Wert 1.

Die obere Grenze ist gegeben durch die Mischung der höchsten Frequenz f_2 mit der niedrigsten Frequenz f_1 ; sie hat also den Wert $f_2 - f_1$.

In Abb. 3.2.2 sind diese Ergebnisse für den komplexen Sinusreiz zusammengefaßt.

Man erkennt daran, daß beim komplexen Reiz an einer quadratischen Kennlinie die 1. Harmonischen der Antwort nur dann ungestört erhalten werden, wenn das Reizfrequenzband auf eine Oktave beschränkt bleibt ²⁾. In diesem Fall läßt sich auch für den komplexen Sinusreiz das quadratische System wie ein System mit linearer Kennlinie behandeln.

Enthält die Taylor-Entwicklung der Kennlinie auch ein kubisches Glied, so werden bei einem komplexen Reiz neue Frequenzanteile erzeugt, die in das Frequenzintervall der Grundschwingung fallen. Neben den schon beim Doppelsinusreiz erwähnten Anteilen liegen nun auch die Mischfrequenzen $2f_i - f_k$ und Intermodulationen der Form $f_i \pm f_k \pm f_1$ in der Grundoktave. Damit existiert keine Proportionalität mehr zwischen komplexen Reizkomponenten und linearen Antwortanteilen.

1) $\mathbb{N}$: Menge der natürlichen Zahlen

2) Ganz exakt muß von einem einseitig offenen Frequenzintervall gesprochen werden. Für die im Reiz enthaltenen Frequenzen f_i muß gelten: $f_1 \leq f_i < f_2$ oder $f_1 < f_i \leq f_2$ mit $f_2 = 2f_1$.

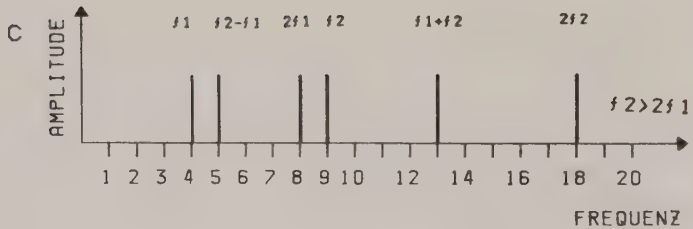
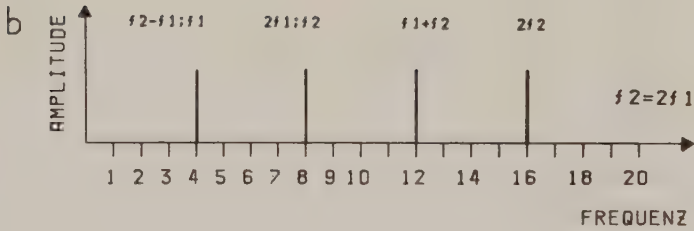
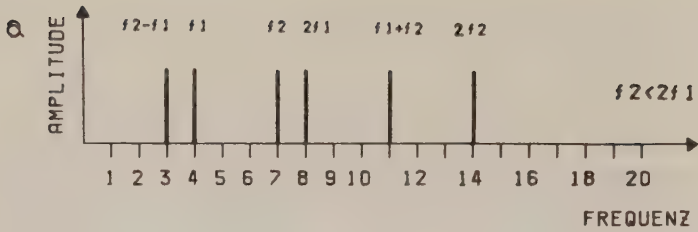


Abb. 3.2.1: Intermodulationen und Harmonische bei einer quadratischen Kennlinie für einen 2-komponentigen Sinusreiz mit unterschiedlichen Frequenzverhältnissen;

a) Frequenz $f_2 < 2 \cdot f_1$; b) $f_2 = 2 \cdot f_1$; c) $f_2 > 2 \cdot f_1$

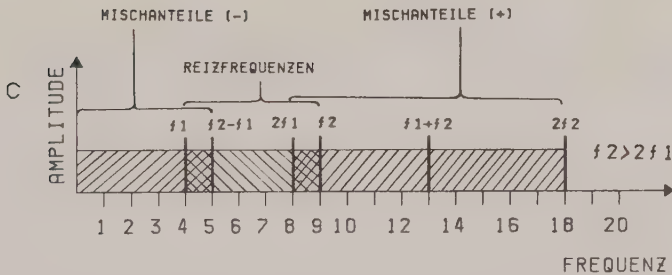
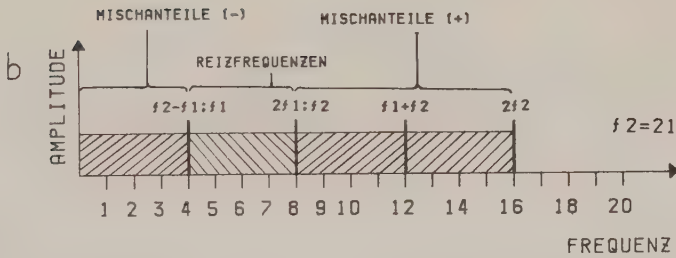
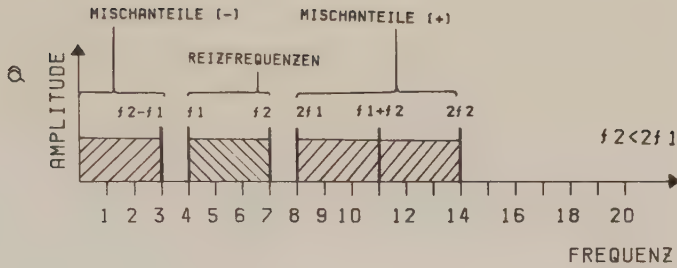


Abb. 3.2.2: Intermodulationen und Harmonische bei einer quadratischen Kennlinie für einen komplexen Sinusreiz mit unterschiedlichen Bandbreiten;
a) Frequenz $f_2 < 2 \cdot f_1$; b) $f_2 = 2 \cdot f_1$; c) $f_2 > 2 \cdot f_1$

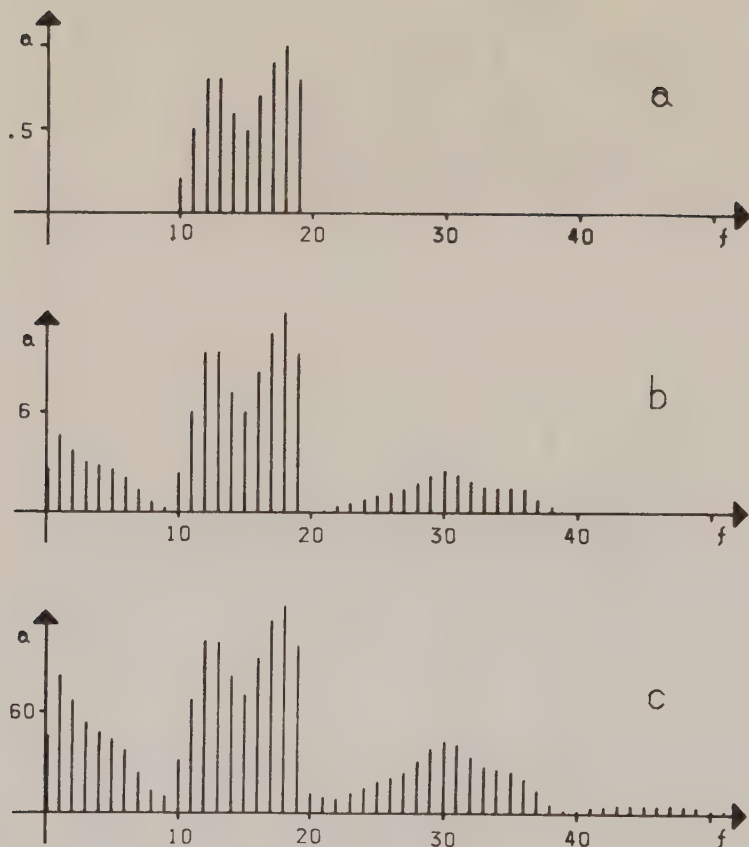


Abb. 3.2.3: Die Verzerrung eines komplexen Sinusreizes an nicht-linearen Kennlinien;

a) 10-komponentiger Reiz, moduliert um den Arbeitspunkt $\bar{x}=6$ an

b) der quadratischen Kennlinie $y=x^2$

c) der kubischen Kennlinie $y=x^3$

Die maximale Modulation des Reizes beträgt annähernd 100%;

a: Amplitude ; f: Frequenz(index)

Als Beispiel für diese Aussagen wurde die Verzerrung eines komplexen Sinusreizes an den Kennlinien $y = x^2$ bzw. $y = x^3$ betrachtet. An diesen Kennlinien wurde im Arbeitspunkt P ($x=6$) moduliert. Der Sinusreiz bestand aus 10 Komponenten mit den (normierten) Frequenzen $10 \leq f_i < 20$. Er ist in Abb. 3.2.3a dargestellt. In Abb. 3.2.3b ist das Ergebnis der quadratischen, in Abb. 3.2.3c das der kubischen Verzerrung aufgetragen. Zu beachten ist, daß im kubischen Fall die Intermodulationen im gesamten Spektralbereich verteilt sind.

Aus den Abbildungen erkennt man weiterhin, daß die Form der quadratischen Nichtlinearität nicht mit dem beim Einzelsinusreiz gewonnenen Ergebnis gedeutet werden kann. Im Fall des Einzelsinus und der quadratischen Verzerrung wurde gezeigt, daß die Amplitude a_{nf} der n-ten Harmonischen proportional zur n-ten Potenz des Modulationsgrades m ist. Für die Amplituden der Harmonischen 1. und 2. Ordnung gilt folglich (siehe Abschnitt 2):

$$a_{1f} \sim m \quad \text{und} \quad a_{2f} \sim m^2 \quad (3.2.1)$$

Wenn man also den oben betrachteten komplexen Sinusreiz in seine 10 Einzelkomponenten zerlegt und diese nicht gleichzeitig sondern hintereinander auf ein quadratisch verzerrtes System wirken läßt, zeigt die Amplitudenverteilung der 2. Harmonischen das quadratische Amplitudenspektrum der 1. Harmonischen.

Dieser Zusammenhang wird jedoch durch die gleichzeitige, mehrkomponentige Sinusreizung zerstört. Wie z. B. aus Abb. 3.2.3b ersichtlich, zeigt das Spektrum der 1. Harmonischen ein Minimum bei der Frequenz $f=15$. Im Gegensatz dazu ist der Beitrag der 2. Harmonischen am zugeordneten Frequenzpunkt $2f=30$ maximal.

Zusammenfassend soll als Ergebnis dieses Kapitels folgendes festgehalten werden:

Wie schon im Fall des Einzel- und Doppelsinusreizes gezeigt wurde, verhält sich ein quadratisch nichtlineares System bezüglich eines komplexen Sinusreizes wie ein lineares System, wenn man die Fourier-analytisch ermittelten 1. Harmonischen der Systemantwort betrachtet.

Allerdings muß das Reizfrequenzband auf eine Oktave beschränkt werden, um Störungen dieses Frequenzbandes durch Intermodulationen und höhere Harmonische zu verhindern.

Im Fall eines nicht mehr in quadratischer Näherung darstellbaren Übertragungsverhaltens wird die lineare Komponente einer Systemantwort vielfältig beeinflusst. Deshalb versagt die harmonische Analyse bei der Untersuchung solcher Systeme.

Bisher wurden die durch die Verzerrung entstehenden Frequenzkomponenten eines komplexen Sinusreizes nur hinsichtlich ihrer Frequenzlage untersucht. Die quantitative Analyse ihrer Amplituden steht noch aus und soll im nächsten Kapitel für den quadratischen Fall erfolgen.

3.3 Komplexer Sinusreiz an einer quadratischen Kennlinie; quantitative Untersuchung der Nichtlinearitäten

In Abb. 3.2.3.b des vorangegangenen Kapitels wurde ein Fourier-analytisch ermitteltes Antwortspektrum dargestellt. Dieses Antwortspektrum entstand bei der Verzerrung eines 10-komponentigen Sinusreizes an einer quadratischen Kennlinie.

Bei Kenntnis der Kennlinienfunktion kann das Antwortspektrum jedoch auch rechnerisch ermittelt werden.

Dazu betrachtet man eine quadratische Kennlinienfunktion $y = \alpha x + \beta x^2$ und einen vorerst 2-komponentigen Reiz der Form $x(t) = a_1 \cdot \sin(\omega_1 t) + a_2 \cdot \sin(\omega_2 t)$.

Ähnlich zur Ableitung in Kapitel 3.1 ¹⁾ ergibt sich für y :

1) Auf eine mögliche Phase q , die im Kapitel 3.1 berücksichtigt wurde, wird im Kapitel 3.4. eingegangen.

$$\begin{aligned}
 y &= \alpha \cdot a_1 \cdot \sin(\omega_1 t) + \alpha \cdot a_2 \cdot \sin(\omega_2 t) + \beta \cdot a_1^2 \cdot \sin^2(\omega_1 t) + \\
 &+ 2\beta \cdot a_1 \cdot a_2 \cdot \sin(\omega_1 t) \cdot \sin(\omega_2 t) + \beta \cdot a_2^2 \cdot \sin^2(\omega_2 t) = \\
 &= \alpha \cdot a_1 \cdot \sin(\omega_1 t) + \alpha \cdot a_2 \cdot \sin(\omega_2 t) + \frac{1}{2} \beta \cdot a_1^2 - \frac{1}{2} \beta \cdot a_1^2 \cdot \cos(2\omega_1 t) - \\
 &- \frac{1}{2} \beta \cdot a_2^2 - \frac{1}{2} \beta \cdot a_2^2 \cdot \sin(\omega_1 t) + \beta \cdot a_1 \cdot a_2 \cdot \cos\{(\omega_1 - \omega_2)t\} - \\
 &- \beta \cdot a_1 \cdot a_2 \cdot \cos\{(\omega_1 + \omega_2)t\} \quad (3.3.1)
 \end{aligned}$$

Die Gleichung beschreibt die entstehenden Antwortanteile eines Doppelsinusreizes. Wird nun anstelle eines 2-komponentigen Reizes ein komplexer Sinusreiz der Form

$$x(t) = \sum_i a_i \sin(\omega_i t) \quad \text{verwendet, so l\u00e4\u00dft sich analog zu}$$

Gleichung 3.3.1 schreiben:

$$y(t) = \alpha \cdot \sum_i a_i \sin(\omega_i t) + \beta \cdot \left(\sum_i a_i \sin(\omega_i t) \right)^2 \quad (3.3.2)$$

Das 1. Glied dieser Formel beschreibt die linearen Antwortanteile, die spektral mit den Reizfrequenzen zusammenfallen. Das 2. Glied der Formel 3.3.2 l\u00e4\u00dft sich entwickeln in:

$$\begin{aligned}
 &\beta \cdot \left\{ \sum_i a_i \cdot \sin(\omega_i t) \right\}^2 = \\
 &= \beta \cdot \left\{ \sum_i a_i^2 \cdot \sin^2(\omega_i t) \right\} + \beta \cdot \left\{ \sum_{\substack{i,k \\ i \neq k}} a_i a_k \cdot \sin(\omega_i t) \cdot \sin(\omega_k t) \right\} = \\
 &= \frac{1}{2} \beta \cdot \sum_i a_i^2 - \frac{1}{2} \beta \cdot \sum_i a_i^2 \cdot \cos(2\omega_i t) + \frac{1}{2} \beta \cdot \sum_{\substack{i,k \\ i \neq k}} a_i a_k \cdot \cos\{(\omega_i - \omega_k)t\} - \\
 &- \frac{1}{2} \beta \cdot \sum_{\substack{i,k \\ i \neq k}} a_i a_k \cdot \cos\{(\omega_i + \omega_k)t\} = \\
 &= (I) + (II) + (III) + (IV) \quad (3.3.3)
 \end{aligned}$$

Gleichung 3.3.3 beschreibt also quantitativ alle durch die quadratische Verzerrung erzeugten nichtlinearen Antwortbeiträge. Im einzelnen sind dies:

(I) Ein zeitunabhängiger Gleichanteil der Amplitude $\frac{1}{2} \beta \sum_i a_i^2$,

(II) Die 2. Harmonischen mit den Amplituden $\frac{1}{2} \beta a_i^2$,

(III) Die unterhalb des Frequenzbandes der 1. Harmonischen liegenden Intermodulationen (Subharmonische). Für die Frequenz

$$f_s = f_i - f_k \text{ ergibt sich die Amplitude zu } \frac{1}{2} \beta \sum_{\substack{i \neq k \\ k=i+s}} a_i a_k,$$

wobei i und k nur Werte aus dem Reizfrequenzband annehmen dürfen.

(IV) Die in den Bereich der 2. Harmonischen fallenden Intermodulationen. Für eine Frequenz $f_h = f_i + f_k$ ergibt sich die Amplitude zu $\frac{1}{2} \beta \sum_{\substack{i \neq k \\ k=h-i}} a_i a_k$,

wobei i und k nur Werte aus dem Reizfrequenzband annehmen dürfen.

Nach dieser Aufschlüsselung wurde ein BASIC-Programm geschrieben, daß bei Kenntnis der Kennlinienfunktion die Anteile I bis IV und den linearen Anteil aus dem Reiz berechnet und alle Glieder zum Amplitudenspektrum aufaddiert. Ein Ergebnis dieser Programmanwendung ist in Abb. 3.3.1.a dargestellt. Die Daten für Reiz und Kennlinie wurden dem Beispiel aus Abb. 3.2.3 entnommen. Zur besseren Darstellung jedoch sind die Nichtlinearitäten hochskaliert.

Wie zu erwarten war, deckt sich das Fourier-analytisch gewonnene Amplitudenspektrum (Abb. 3.2.3) mit dem durch Berechnung synthetisierten Kurvenverlauf.

In Abb. 3.3.1.a sind auch die Einzelbeiträge zum Summenspektrum eingezeichnet. Dabei zeigt sich der quadratische Zusammenhang zwischen dem Spektrum der reinen 2. und dem der 1. Harmonischen. Diese Abhängigkeit wird jedoch im Summenspektrum durch die Mischanteile überdeckt.

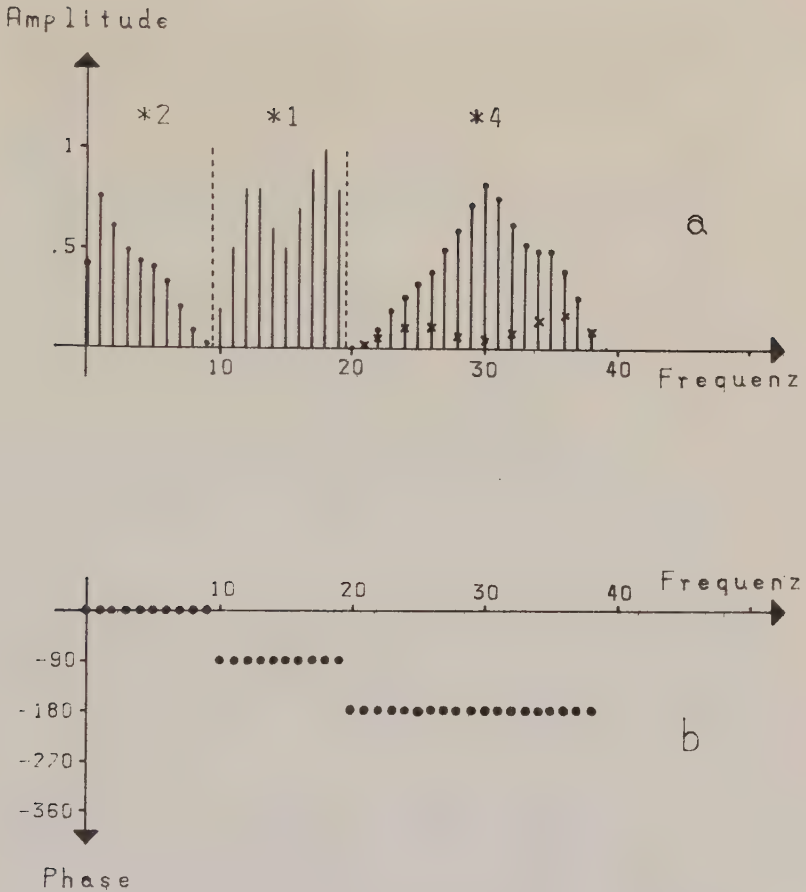


Abb. 3.3.1: Amplituden- (a) und Phasenspektrum (b) des 10-komponentigen Reizes nach Abb. 3.2.3 bei quadratischer Verzerrung;

a) Balken: Fourier-analytisch ermitteltes Spektrum
 Punkte: Aus der linearen Antwort errechnete Nichtlinearität
 Kreuze: Rein-quadratische nichtlineare Antwortanteile
 * n : Skalierungsfaktor der Amplitude

b) Fourier-analytisch gewonnenes Phasenspektrum; die Reizkomponenten starteten zum Erfassungszeitpunkt $t=0$ sinusförmig

Auf Teilbild b) wird im Kapitel 3.4 eingegangen.

Die oben durchgeführte quantitative Berechnung des Antwortspektrums ist nur möglich, wenn die an der Kennlinie wirksamen Amplituden a_i bekannt sind. Dies ist in der Praxis jedoch oft nicht gegeben.

Besteht z. B. das zu untersuchende System zuerst aus einer frequenzabhängigen Amplitudenänderung C_i , so werden die Reizamplituden $\tilde{a}_i$ in die Amplituden $a_i = C_i \cdot \tilde{a}_i$ transformiert. Sind diese Amplituden nun an einer quadratischen Kennlinie wirksam, so werden sie in die linearen Antwortkomponenten $\tilde{b}_i = \alpha \cdot a_i$ umgesetzt (α : Steigung im Arbeitspunkt). In diesem Fall ist die Kenntnis des Kennlinienparameters α ausreichend, um an den gemessenen $\tilde{b}_i$ die wirksamen Amplituden a_i zu bestimmen.

Ist dem System jedoch letztlich noch eine unbekannte Verstärkung F nachgeschaltet, erhält man als meßbare lineare Antwort:

$$b_i = F \cdot \alpha \cdot a_i \quad (3.3.4)$$

Wie man sich leicht durch Einsetzen in Formel 3.3.2 überzeugen kann, ist eine quantitative Berechnung des Spektrums nun nicht mehr möglich, da die nichtlinearen Glieder durch den Faktor $F^2 \cdot \alpha^2$ und die linearen Glieder durch den Faktor $F \cdot \alpha$ verfälscht sind.

Dennoch läßt sich im quadratischen Fall der unbekannte Faktor F aus dem Fourier-analytisch gewonnenen Antwortspektrum bestimmen. Dazu bildet man das Verhältnis V der 1. und 2. Harmonischen einer beliebigen Antwortkomponente des gemessenen Antwortspektrums.

Mit Formel 3.3.2, 3.3.3 und 3.3.4 läßt sich schreiben:

$$\begin{aligned} V = \frac{b_i}{b_{2i}} &= \frac{F \cdot \alpha \cdot a_i}{\frac{1}{2} \beta \cdot F \cdot (a_i^2 + \sum_{k \neq i} a_k a_{2i-k})} = \\ &= 2 \frac{\alpha}{\beta} \cdot \frac{a_i}{a_i^2 \cdot (1 - \sum_{k \neq i} \frac{a_k}{a_i} \cdot \frac{a_{2i-k}}{a_i})} \end{aligned} \quad (3.3.5)$$

Die im Nenner unter dem Summenzeichen stehenden Größen sind wieder-

um aus dem gemessenen Amplitudenspektrum ablesbar, da der Verstärkungsfaktor F sich nicht auf Amplitudenverhältnisse auswirkt. Gleichung 3.3.5 ist folglich eine Bestimmungsgleichung der wirksamen Amplitude a_i aus den gemessenen Größen

$$V, \frac{F \cdot a_k}{F \cdot a_i}, \frac{F \cdot a_{2i-k}}{F \cdot a_i} \quad \text{und der Kenntnis der Kennlinienparameter } \alpha \text{ und } \beta :$$

$$a_i = \frac{2\alpha}{\beta} \cdot \frac{1}{V} \cdot \frac{1}{1 + \sum_{i \neq k} \frac{F \cdot a_k}{F \cdot a_i} \frac{F \cdot a_{2i-k}}{F \cdot a_i}} \quad (3.3.6)$$

Wenn man die so berechnete Größe a_i in Gleichung 3.3.4 einsetzt, erhält man somit den unbekannten Verstärkungsfaktor F und kann das Antwortspektrum quantitativ errechnen,

Ist nur der qualitative Verlauf der nichtlinearen Spektrumsanteile von Interesse, so braucht man weder die Kenntnis der Kennlinienparameter noch die Kenntnis eines Verstärkungsfaktors F . Wenn die gemessenen linearen Antwortanteile direkt als wirksame Amplitude a_i und α und β willkürlich angenommen werden, so sind die nichtlinearen Antwortanteile mit einem konstanten Faktor $F^2 \cdot \alpha^2 \cdot \beta$ modifiziert. Auf die Form der nichtlinearen Spektralanteile hat dies jedoch keinen Einfluß.

Als Zusammenfassung dieses Kapitels soll festgehalten werden:

Im Fall eines 1-oktavigen komplexen Sinusreizes und einer in quadratischer Näherung beschreibbaren Übertragungsfunktion ist es möglich, das Antwortspektrum zu berechnen. Diese Berechnung stimmt mit dem Fourier-analytisch gewonnenen Ergebnis überein.

Für die praktische Anwendung könnte die hier vorgestellte Berechnung des nichtlinearen Antwortspektrums aus dem linearen Antwortspektrum in folgenden Fällen sinnvoll sein:

- Unter der Voraussetzung, daß für alle Reizspektralelemente die gleiche Kennlinie, also eine frequenzunabhängige Übertragungsfunktion gilt, läßt sich der quadratische Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort überprüfen; in diesem Fall muß das berechnete nichtlineare Antwortspektrum mit dem Fourier-analytisch gewonnenen qualitativ übereinstimmen.

- b) Ist andererseits der quadratische Fall in Näherung gegeben und stimmen berechnetes und analytisch gewonnenes Ergebnis nicht überein, so kann man unter Umständen über die Art des zu untersuchenden Systems Aussagen machen. Auf diesen Punkt wird im Abschnitt 6 eingegangen.
- c) Sind die quadratischen Parameter α und β (und ihre eventuelle Abhängigkeit von der Frequenz) bekannt, das Antwortspektrum aber unbekannt skaliert, so läßt sich der unbekannte Skalierungsfaktor F und damit die Absolutantwort ermitteln.

Die in Abb. 3.3.1b zusätzlich dargestellte Phasen-Frequenz-Abhängigkeit wird im nächsten Kapitel besprochen.

3.4 Einfluß der Phase beim komplexen Sinusreiz; Vergleich zwischen berechnetem und Fourier-analytisch gewonnenem Ergebnis

Wie im Kapitel 3.3 gezeigt wurde, läßt sich bei einer quadratischen Kennlinie das vollständige Antwortspektrum eines komplexen Sinusreizes leicht errechnen.

Dabei wurde jedoch davon ausgegangen, daß alle Sinuskomponenten die gleiche Phasenlage $\tilde{q}_i=0$ haben¹⁾, daß also gilt:

$$\sum_i a_i \cdot \sin(\omega_i t) = 0 \quad \text{bei } t=0 \quad (3.4.1)$$

In diesem Fall folgt für ein System ohne Totzeit (keine Phasenverschiebung zwischen Reiz und Antwort) per definitionem die Phasenlage $\tilde{q}_i = 0$ für alle linearen Antwortkomponenten. Die Phasenlage der quadratisch-nichtlinearen Antwortkomponenten zum Zeitpunkt $t=0$ ergibt sich aus Gleichung 3.3.3; sie beträgt $\tilde{q}_i = -90^\circ$ für die 2. Harmonischen und die in diesen Bereich fallenden Mischfrequenzen, und $\tilde{q}_i = 90^\circ$ für die subharmonischen Intermodulationen.

Auch die Fourieranalyse liefert als Ergebnis die Phaseninformation. Im Gegensatz zu obigen Überlegungen werden dabei (willkür-

1) Die Bezeichnung $\tilde{q}_i$ soll diese Phasen von den Fourier-analytisch ermittelten (q_i) unterscheiden, die in diesem Kapitel eingeführt werden.

lich) die Phasen auf die Cosinusfunktion bezogen¹⁾.

Gleichung 3.4.1 muß deshalb umgeformt werden in

$$\sum_i a_i \cdot \sin(\omega_i t) = \sum_i a_i \cdot \cos(\omega_i t - 90^\circ) \quad (3.4.2)$$

Aus dieser Gleichung erkennt man, daß die Sinusschwingung eine Phasenverschiebung von $q = -90^\circ$ gegenüber der Cosinus-Funktion aufweist.

Daraus folgt, daß Sinusschwingungen mit der Phase $\tilde{q}_i$ bei der Fourieranalyse die Phasenlage $q_i = \tilde{q}_i - 90^\circ$ haben. Dies ist in Abb. 3.3.1b ersichtlich. Hier sind die Fourier-analytisch ermittelten Phasenlagen für das in Abb. 3.3.1.a dargestellte Kunstspektrum aufgetragen. Das Kunstspektrum wurde mit einem 10-komponentigen Sinusreiz erzeugt, dessen Komponenten alle zum Zeitpunkt $t=0$ sinusförmig starteten.

Aus Abb. 3.3.1.b erkennt man, daß alle linearen Antwortkomponenten die Fourier-analytisch ermittelte Phasenlage $q = -90^\circ = 270^\circ$ aufweisen. Die Phasen für die Subharmonischen betragen $q = 0^\circ$, für die 2. Harmonischen und die in den selben Bereich fallenden Mischfrequenzen $q = -180^\circ = 180^\circ$. Diese Ergebnisse decken sich mit den aus Gleichung 3.3.3 gewonnenen Resultaten, wenn man den 90° -Unterschied zwischen $\tilde{q}$ und q berücksichtigt.

Bei der Stimulation eines biologischen Objektes durch einen komplexen Sinusreiz erhält man als Phaseninformation den Phasengang dieses Systems im Frequenzbereich der linearen Antwort.

Will man zusätzlich die Phasenlage der Nichtlinearität untersuchen, muß der lineare Phasengang in Rechnung gestellt werden. Wie unten gezeigt werden wird, kann sich dieser Phasengang unter Umständen auch auf die Amplitude der nichtlinearen Antwort auswirken.

Im folgenden werden zwei Fälle der frequenzabhängigen Phasenverschiebung betrachtet:

1) Eine Cosinusfunktion, die zum Zeitpunkt $t=0$ des Fouriertransformationsintervalles dt startet, hat also die Phase $q=0$.

1) Die Phasenverschiebung findet nach der nichtlinearen Verzerrung statt. Dieser Fall beeinflußt das Phasenspektrum linear. Wird z. B. die verzerrte Antwort gegenüber dem Reiz um eine Totzeit t verzögert, so wird zu den unverschobenen Phasenlagen der Antwortkomponenten die frequenzabhängige Zusatzphase $q_i = \omega_i t$ dazuaddiert. Ein davor konstantes Phasenspektrum zeigt ein lineares Anwachsen der Phase. Die Differenz der Phase von 1. und 2. Harmonischer wächst folglich mit zunehmender Frequenz gemäß der Formel

$$dq_{2i-i} = (-90^\circ + 2q_i) - q_i = -90^\circ + q_i .$$

Anders ist dies im Fall einer konstanten Zusatzphase q_c . Dann werden alle Antwortkomponenten um q_c phasenverschoben und die Differenz beträgt für jede Komponente i :

$$dq_{2i-i} = -90^\circ .$$

2) Die Phasenverschiebung findet vor der nichtlinearen Verzerrung statt. Dieser Fall beeinflußt das Phasenspektrum nichtlinear und soll im nachfolgenden untersucht werden.

Eine Phasenverschiebung vor der nichtlinearen Verzerrung ist äquivalent zur Einführung von Anfangsphasenlagen beim komplexen Sinusreiz S :

$$S = \sum_i a_i \cdot \sin(\omega_i t + \tilde{q}_i)$$

Die Fourier-analytisch ermittelten linearen Antwortkomponenten zeigen deshalb eine Phasenlage $q_i = \tilde{q}_i - 90^\circ$.

Für den zeitabhängigen Antwortanteil G^2 gilt:

$$G^2 \sim \sum_i -\frac{1}{2} a_i^2 \cdot \cos(2\omega t + 2\tilde{q}_i) = \sum_i \frac{1}{2} a_i^2 \cdot \cos(2\omega t + 2\tilde{q}_i - 180^\circ)$$

Die Fourier-analytisch ermittelten 2. Harmonischen haben also die Phasen $q_{2i} = 2\tilde{q}_i - 180^\circ = 2q_i$.

Die Differenz der Phasen zwischen 1. und 2. Harmonischer berechnet

sich zu: $dq_{2i-i} = q_i$.

Für die Intermodulationen zweier Frequenzen ergeben sich nach (hier nicht durchgeführter) längerer Rechnung folgende Phasen:

$$q_{i-k} = q_i - q_k \quad \text{und} \quad q_{i+k} = q_i + q_k.$$

Aus diesen Ergebnissen sieht man:

- a) Die Differenz der Phasen zwischen 1. Harmonischer und 2. Harmonischer (ohne Mischanteile) ist gleich der Phasenlage der 1. Harmonischen.
- b) Die Phasenlage der Intermodulationen setzt sich für 2 Frequenzen je nach Mischung aus den Einzelphasenlagen zusammen.

Bei einem komplexen Sinusreiz addieren (subtrahieren) sich jeweils mehrere Komponentenpaare zur gleichen Mischfrequenz. Jedes dieser Paare hat eine eigene Amplitude und eigene Phasenlage. Mehrere sinusoidale Größen der gleichen Frequenz aber unterschiedlicher Amplitude und Phase müssen vektoriell addiert werden. Die Amplitude und Phase dieser Vektorsumme entspricht dem Fourier-analytisch gewonnenen Ergebnis.

Für die Amplitude a_Δ des Mischanteils Δ ergibt sich nach den Regeln der Vektoraddition (Bronstein-Semendjajew, 1956):

$$a_\Delta = \sqrt{\sum_{i,k} a_{ik}^2 + \sum_{ik \neq lm} a_{ik} \cdot a_{lm} \cdot \cos(q_{ik} - q_{lm})},$$

wobei $a_{ik} = a_i \cdot a_k$ bzw. $a_{lm} = a_l \cdot a_m$ die Amplituden und $q_{ik} = q_i \pm q_k$ bzw. $q_{lm} = q_l \pm q_m$ die Phasen aller möglichen zweikomponentigen Mischanteile sind, die zur Frequenz Δ beitragen. Im ersten Summanden werden also alle Amplitudenquadrate addiert. Im zweiten Summanden ist zu berücksichtigen, daß jeder Beitrag zweimal auftritt, da gilt:

$$a_{ik} \cdot a_{lm} \cdot \cos(q_{ik} - q_{lm}) = a_{lm} \cdot a_{ik} \cdot \cos(q_{lm} - q_{ik}).$$

Für die Phase q_Δ des Mischanteils Δ ergibt sich:

$$q_\Delta = \arctan \frac{\sum a_{ik} \cdot \sin q_{ik}}{\sum a_{ik} \cdot \cos q_{ik}} \quad (3.4.3)$$

Wiederum bezeichnen a_{ik} und q_{ik} die Amplituden und Phasen des zweikomponentigen Frequenzanteils Δ , der durch Mischung der Anteile i und k entsteht.

Die (Summen-)Amplitude einer Intermodulation wurde in Gleichung 3.3.3 für den Fall konstanter Reizphasenlage durch skalare Addition der zweikomponentigen Amplitudenanteile errechnet. Dieses Ergebnis ist also eine obere Abschätzung des zu erwartenden Resultates für frequenzabhängige Reizphasenlagen. Wenn frequenzabhängige Reizphasenlagen gegeben sind, werden die Fourier-analytisch ermittelten Amplituden der nichtlinearen Frequenzanteile wegen der vektoriellen Addition der einzelnen Beiträge reduziert.

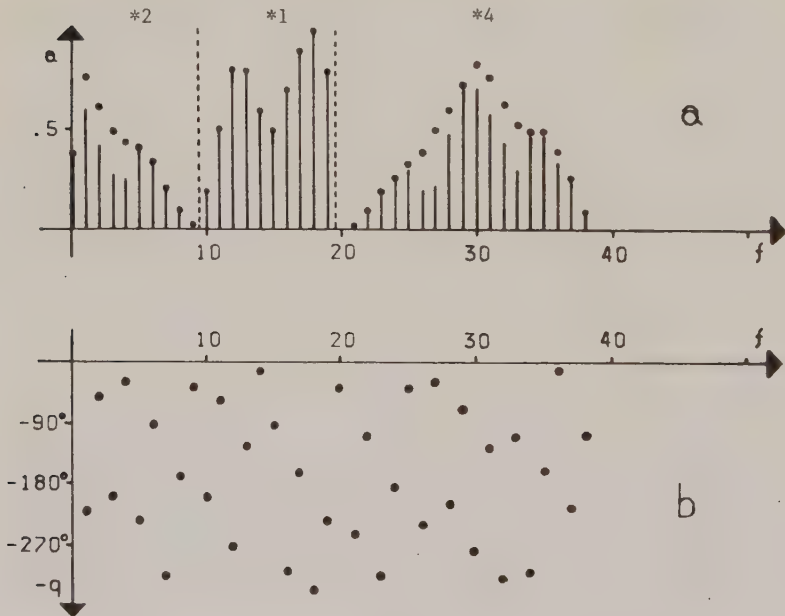


Abb. 3.4.1: Amplituden- (a) und Phasenspektrum (b) des 10-komponentigen Sinusreizes nach Abb. 3.3.1 mit willkürlich gewählter Anfangsphase der Reizkomponenten;

*n: Amplitudenskalierungsfaktor ; a: Amplitude ; f: Frequenz
q: Phase

Zu a): Balken: Fourier-analytisch ermitteltes Spektrum

Punkte: Ergebnis aus Abb. 3.3.1

In Abb. 3.4.1a,b ist wie in Abb. 3.3.1a,b das Amplituden- und Phasenspektrum einer Systemantwort dargestellt. Diese Antwort wurde wiederum mit den auch Abb. 3.3.1 zugrundeliegenden Annahmen (10-komponentiger Sinusreiz, quadratische Kennlinie) errechnet, wobei allerdings die einzelnen Reizanteile mit verschiedenen Phasen starteten. Das Phasenspektrum der linearen Antwortkomponenten zeigt die unterschiedlichen Phasenlagen.

In Abb. 3.4.1a ist das Ergebnis von Abb. 3.3.1a durch Punkte eingetragen. Während, wie zu erwarten, die lineare Antwort mit dem Ergebnis aus Abb. 3.3.1a übereinstimmt, zeigen die Nichtlinearitäten, bedingt durch unterschiedliche Phase der Reizfrequenzen, ein abweichendes Verhalten.

Die in Abb. 3.4.1b dargestellten Fourier-analytisch ermittelten Phasen lassen sich nur bei Amplitudenkenntnis der zweikomponentigen Mischanteile gemäß Formel 3.4.3 berechnen.

Es gibt jedoch zwei Sonderfälle, bei denen sich die Phasenlagen und Amplituden der Nichtlinearitäten leicht bestimmen lassen, auch wenn die Reizfrequenzen von Null verschiedene Phasenlagen haben:

Der erste Fall ist eine konstante Phasenlage aller Reizfrequenzen, d. h. $q_i = \text{konstant}$. Daraus ergibt sich für die Subharmonische die Phasenlage $q_i = 0$, und für die über dem Reizfrequenzband liegenden Mischfrequenzen und 2. Harmonischen $q_{2i} = q_i + q_k = 2q_i$.

Da sowohl additive Mischanteile als auch 2. Harmonische die gleiche Phasenlage haben, wird aus der vektoriellen Amplitudenaddition eine skalare. Deshalb entsprechen die Amplituden der nicht-linearen Spektralanteile der durch die Bedingung $\tilde{q}_i = 0$ gegebenen oberen Grenze.

Ein System mit frequenzunabhängiger Phase $q_i \neq 0$ hat eine frequenzabhängige Totzeit t der Form

$$t(f) = \frac{q}{2\pi \cdot f} \quad , \quad f: \text{Frequenz} \quad (3.4.4)$$

Häufiger jedoch weist ein System eine frequenzunabhängige Totzeit $t \neq 0$ auf. Im Falle chemischer Reaktionen ist diese z. B. durch die Reaktionskinematik gegeben.

Das Auftreten einer konstanten Totzeit ist der 2. Sonderfall, der die leichte Berechnung von Phase und Amplitude der Nichtlinearitäten ermöglicht. Eine konstante Totzeit $t = C$ erzeugt eine linear mit der Frequenz anwachsende Phase $q(f) = C \cdot 2\pi \cdot f$. Benachbarte Frequenzen zeigen deshalb eine konstante Differenz dq in ihren Phasen. Damit ist die Phase für alle Anteile, die zu gleichen Subharmonischen führen, konstant. Für eine Subharmonische der (normierten) Frequenz f_s folgt deshalb eine Phase $q_s = s \cdot dq$.

Zu einer Frequenz f_{2i} im Frequenzband der 2. Harmonischen tragen Anteile mit den Phasen $q_H = q_{(i-1)+(i+1)}$ bei, wobei $l = 0, 1, \dots, n$ ist.

Für $l = 0$ ist damit die 2. Harmonische mit einer Phase $q_H = 2q_i$ beschrieben; für $l > 0$ ergeben sich die additiven Mischanteile zweier Komponenten des Reizfrequenzbandes. Die Phase dieser zu einer Frequenz gehörigen Anteile berechnet sich zu:

$$q_H = q_{(i-1)} + q_{(i+1)} = q_i - l \cdot dq + q_i + l \cdot dq = 2q_i$$

Daraus folgt, daß zur Amplitude a_{2i} alle Anteile gleichphasig mit der Phase $2q_i$ beitragen.

Wie im Fall einer frequenzunabhängigen Phase wird also auch bei linear wachsender Phase das Amplitudenspektrum der Nichtlinearitäten nicht durch die Phasenlagen beeinflusst.

In Abb. 3.4.2 sind die Amplituden- und Phasen-Antwortspektren auf den komplexen Sinusreiz dargestellt, der auch für die in Abb. 3.3.1 und Abb. 3.4.1 aufgetragenen Ergebnisse verwendet wurde. Allerdings wurden gegenüber Abb. 3.4.1 die Anfangsphasen des Reizfrequenzbandes in aufsteigender Reihenfolge angeordnet. Damit ist der Phasengang durch eine konstante Totzeit beschreibbar und das Amplitudenspektrum stimmt mit Abb. 3.3.1a überein.

Abschließend sei noch einmal betont, daß hier nur quadratische Verzerrungen berücksichtigt wurden. Höhere Verzerrungen modifizieren das Phasenspektrum. Dies wird in Abb. 3.4.3 gezeigt. Sie entspricht bezüglich der Reizzusammensetzung Abb. 3.4.2; der Reiz wurde jedoch kubisch verzerrt. Damit treten auch in den Phasen der

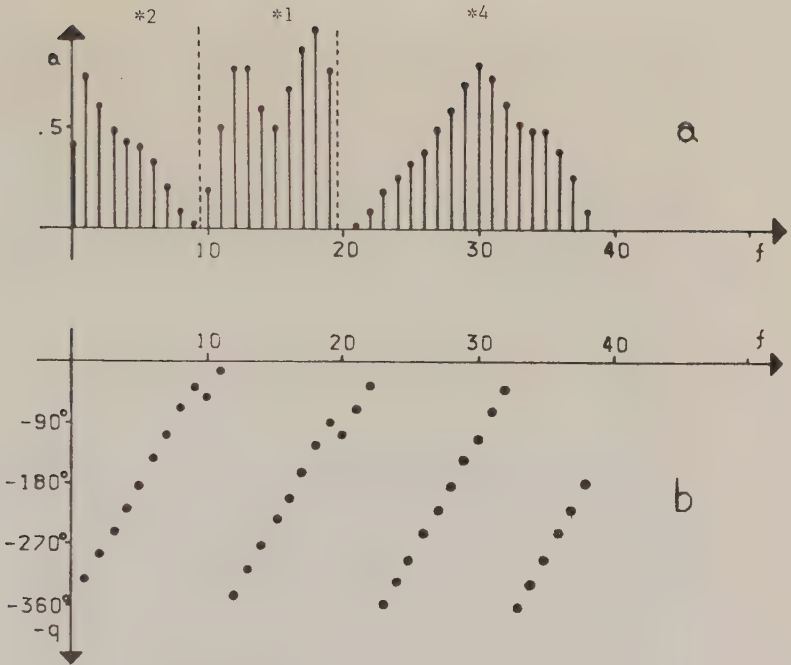


Abb. 3.4.2: Amplituden- (a) und Phasenspektrum (b) des 10-komponentigen Reizes nach Abb. 3.3.1 mit linear wachsender Phase;
 n: Amplitudenskalerungsfaktor ; a: Amplitude ; f: Frequenz
 q: Phase (Auftragung modulo 360°)
 a) Balken: Fourier-analytisch ermitteltes Spektrum
 Punkte: Ergebnis aus Abb. 3.3.1

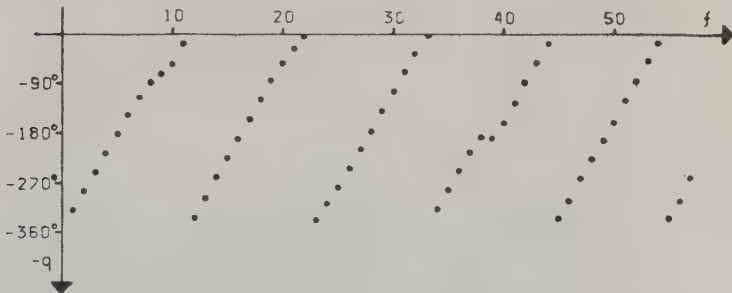


Abb. 3.4.3: Phasenspektrum bei kubischer Verzerrung;
 f: Frequenz ; q: Phase (Auftragung modulo 360°)

nichtlinearen Frequenzanteile gegenüber Abb. 3.4.2 Differenzen auf. Erklärbar sind diese Unterschiede durch die vektorielle Addition quadratischer und kubischer Mischanteile, die zur selben Frequenz gehören, jedoch unterschiedliche Amplituden und Phasenlagen aufweisen. Im Rahmen dieser Arbeit wird auf eine quantitative Betrachtung der kubischen Phasenverzerrung verzichtet, da man sich bei Fourier-analytischen Untersuchungen immer auf eine mindestens quadratische Näherung beschränken muß, wie in den vorangegangenen Kapiteln gezeigt wurde.

Als Zusammenfassung dieses Kapitels soll festgehalten werden:

Die Fourieranalyse liefert neben der Amplitudeninformation auch das Phasen-Frequenz-Spektrum.

Wirkt ein komplexer Sinusreiz der Form $\sum a_i \cdot \sin(\omega_i t)$ (gleiche Anfangsphasen $q_i = 0$) auf ein nichtlineares System mit Phasengang, so kann aus der Form der Phasenantwort im allgemeinen auf die Reihenfolge der Systemkomponenten geschlossen werden. Das Antwortspektrum der Phase ändert sich, wenn die Anordnung von Phasenbeeinflussung und Nichtlinearität vertauscht werden.

Im Fall eines der quadratischen Nichtlinearität folgenden Phasenganges wird das Phasenspektrum linear verzerrt. Insbesondere führt eine konstante Phase q_c zu einer gleichmäßigen Phasenverschiebung aller Antwortkomponenten; eine mit der Frequenz linear wachsende Phase $q_i \sim f_i$ multipliziert das Phasenspektrum mit einer steigenden Gerade.

Im Fall eines der Nichtlinearität vorausgehenden Phasenganges (der experimentell gleichbedeutend mit der Einführung von Anfangsphasen im komplexen Reiz ist), wird die nichtlineare Spektralantwort sowohl amplituden- als auch phasenmäßig nichtlinear beeinflusst.

Sind die Phasen der auf die Nichtlinearität treffenden Frequenzkomponenten konstant oder linear mit der Frequenz wachsend, so wird das nichtlineare Amplitudenspektrum maximal und stimmt mit den Berechnungen ohne Berücksichtigung einer Phase überein.

Für die Phasenlagen der quadratisch erzeugten Nichtlinearitäten gilt in diesen beiden Fällen:

- 1) Die Differenz der Phasen zwischen 2. und 1. Harmonischer ist gleich der Phase der Grundschiwingung.
- 2) Die Phasenlagen der normierten subharmonischen Frequenzen f_s ergeben sich zu $q_s = s \cdot dq$, wobei dq die Phasendifferenz benachbarter Komponenten im Grundfrequenzspektrum ist.

Für kubische Verzerrungen ergibt sich ein komplexeres Phasenspektrum. Dieses wird hier nicht diskutiert.

3.5 Abschätzung des Einflusses kubischer Nichtlinearitäten auf die lineare Antwort

Die bisherigen Betrachtungen haben gezeigt, daß sich für einen 1-oktavigen komplexen Sinusreiz die lineare Antwort exakt ermitteln läßt, wenn die Übertragungsfunktion durch eine quadratische Potenzreihe der Form $y = \alpha + \beta x + \gamma x^2$ beschrieben werden kann.

Für eine beliebige Übertragungsfunktion läßt sich der quadratische Zusammenhang immer dann näherungsweise erreichen, wenn der Modulationsgrad des Reizes hinreichend klein wird. Allerdings verursacht im Normalfall die Verringerung der Reizgröße eine Reduktion der Antwortgröße und damit meistens eine Verschlechterung des Signal/Rausch-Verhältnisses. In der Praxis wird man somit einen Kompromiß zwischen der Güte der Näherung und der Größe des Antwortsignals eingehen müssen. Ein Gütemaß für die Näherung ist das Antwortspektrum der 3. Harmonischen, da diese Antwortanteile nur durch das kubische Glied des Potenzreihenansatzes entstehen. Wenn höhere Potenzen der Reihenentwicklung vernachlässigt werden können, verursacht, wie schon im Kapitel 3.2 erwähnt, das kubische Glied allein die Verzerrung der linearen Antwort.

Diese Verzerrung läßt sich für den Fall des Einzelsinusreizes direkt aus dem ermittelten Antwortspektrum ablesen, wenn man den Antwortanteil der 3. Harmonischen betrachtet. Nach Gleichung 2.4.3 wird das 3-fache dieses Antwortanteiles als Verzerrung zur 1. Harmonischen dazugaddiert. Somit kann die unverzerrte 1. Harmonische auch bei kubischer Verzerrung leicht errechnet werden.

Dies ist jedoch nicht mehr möglich für den Fall des komplexen Sinusreizes. Hier erweist sich die quantitative Verteilung der durch die kubische Verzerrung entstehenden Frequenzbeiträge als komplexe Funktion. Diese Funktion hängt von der Anzahl und Amplitudenverteilung der auf die Kennlinie wirkenden Reizkomponenten nichtlinear ab.

Die durch kubische Verzerrung entstehenden Frequenzbeiträge

eines Sinusreizes der Form
$$x(t) = \sum_{i=1}^n a_i \cdot \sin(\omega_i t)$$

lassen sich durch folgende Gleichung erfassen:

$$\begin{aligned}
 x(t)^3 &= \left\{ \sum_{i=1}^n a_i \cdot \sin(\omega_i t) \right\}^3 = \\
 &= \sum_{i=1}^n a_i^3 \cdot \sin(\omega_i t)^3 + 3 \cdot \sum_{\substack{i,k=1 \\ i \neq k}}^n a_i^2 a_k \sin(\omega_i t)^2 \sin(\omega_k t) + \\
 &+ 6 \cdot \sum_{\substack{i,k,l=1 \\ i < k < l}}^n a_i a_k a_l \cdot \sin(\omega_i t) \cdot \sin(\omega_k t) \cdot \sin(\omega_l t) \quad (3.5.1)
 \end{aligned}$$

Mittels trigonometrischer Umformungen lassen sich daraus qualitativ (ohne Berücksichtigung der Amplitude) Beiträge zu folgenden Frequenzkomponenten $f_i = \frac{\omega_i}{2\pi}$ finden:

- a) Aus dem 1. Glied ergeben sich Beiträge zu f_i und $3f_i$
($i = 1, \dots, n$)
- b) Aus dem 2. Glied ergeben sich Beiträge zu f_k , $2f_i - f_k$, und $2f_i + f_k$ ($i, k = 1, \dots, n$; $i \neq k$)
- c) Aus dem 3. Glied ergeben sich Beiträge zu $f_i + f_k + f_l$, $f_i - f_k + f_l$, $-f_i + f_k + f_l$, und $f_i + f_k - f_l$
($i, k, l = 1, \dots, n$; $i \neq k \neq l$)

Wenn der komplexe Sinusreiz auf eine Oktave beschränkt ist, gilt für den Zusammenhang zwischen unterem und oberem Frequenzindex f_u bzw. f_o :

$$f_o = 2f_u - 1$$

Damit errechnet sich als kleinstmöglicher Frequenzwert f_- für die kubische Verzerrung:

$$f_- = 2f_u - f_o = 2f_u - (2f_u - 1) = 1$$

Der größtmögliche Frequenzwert f_+ ergibt sich zu:

$$f_+ = 3f_0 = 6f_u - 3$$

Wie leicht abzusehen ist, treten Beiträge zu allen Frequenzwerten zwischen f_- und f_+ auf. Es zeigt sich also, daß die kubischen Verzerrungsbeiträge nicht nur auf die 1. Harmonische und 3. Harmonische fallen, sondern auch die Subharmonischen und die 2. Harmonische beeinflussen. Um die zu einem Frequenzwert f_i gehörige Beeinflussung quantitativ zu erfassen, müssen alle zu f_i beitragenden Verzerrungsanteile (gewichtet mit einem amplituden- und beitragsabhängigen Vorfaktor) aufsummiert werden. Dies wurde für verschiedene Amplitudenverteilungen in Abhängigkeit der Anzahl der Reizfrequenzen durchgeführt. Dabei ergaben sich folgende empirisch ermittelte Ergebnisse:

a) Bei konstanter Reizamplitudenverteilung $a_i = C$ (Abb. 3.5.1) zeigt das Spektrum der 3. Harmonischen eine Glockenkurve, die sich durch eine Gaußsche Wahrscheinlichkeitsverteilung mit $\sigma = 0.53 n$ (n = Anzahl der Reizkomponenten) um den Mittelpunkt $\bar{f} = 3/2(f_u + f_0)$ nähern läßt¹⁾. Die Gesamtzahl der in die 3. Harmonischen fallenden Werte beträgt n^3 . Mittels der Gauß-Funktion kann man ihre quantitative Verteilung berechnen.

Die unterhalb der 3. Harmonischen fallenden Frequenzbeiträge der kubischen Verzerrung sind ebenfalls Gauß-verteilt. Den Hauptbeitrag liefern sie zur 1. Harmonischen. Man kann sich diesen Beitrag aus 2 Anteilen zusammengesetzt denken: einem frequenzunabhängigen und einem frequenzabhängigen Anteil.

Der frequenzabhängige Beitrag hat sein Maximum im Punkt $f_m = \frac{1}{2}(f_0 - f_u)$. Damit ist auch die Verzerrung in diesem Punkt am größten und nimmt symmetrisch zu kleineren bzw. größeren Frequenzen um einen von n

1) Im Normalfall ist diese Verteilung jedoch nur für $f_i > 2f_0$ sichtbar, da sie unterhalb durch die größeren Werte der 2. Harmonischen überdeckt wird.

abhängigen Faktor ab (Beispiel: Reduktion der Verzerrung für den Randwert um 21% bei $n = 5$ und um 27% bei $n = 10$).

Bei allen Computersimulationen (bis $n=20$) zeigt sich jedoch unabhängig von der Anzahl der Reizkomponenten ein Verhältnis von 1 : 3 zwischen Maximalamplitude der 3. Harmonischen und der maximalen Verzerrung in der 1. Harmonischen.

b) Auch bei unterschiedlichen Reizamplituden (Abb. 3.5.2) gilt dieses Verhältnis 1 : 3 für die Maximalwerte der 3. Harmonischen und der größten Verzerrung in der 1. Harmonischen in guter Näherung. Allerdings liegt die maximale Verzerrung nicht mehr in der Mitte des Reizfrequenzbandes, sondern ist in den Frequenzbereich größerer Amplituden verschoben. In die gleiche Richtung verschiebt sich auch das Maximum der 3. Harmonischen, deren Werte-Verteilung für große n einer verzerrten Gauß-Funktion ähnelt.

Es zeigt sich also, daß die durch ein kubisches Glied erzeugte Verzerrung von der Amplitudenverteilung und der Anzahl der Reizelemente abhängig ist. Wie jedoch weitere numerische Simulationen auch für extreme Spektralformen ergaben, scheint es in jedem Fall eine gute Abschätzung, das 3-fache Maximum im Bereich der 3. Harmonischen als Maximalfehler für die lineare Antwort anzugeben.

Zu beachten ist, daß die kubische Verzerrung einen additiven Beitrag liefert, der auch an den Rändern des Grundfrequenzbandes nicht verschwindet. Geht man in Näherung davon aus, daß dieser Beitrag im Grundfrequenzband konstant ist, so werden alle linearen Antwortkomponenten um einen Festwert angehoben. Der relative Fehler ist damit umgekehrt proportional zur Amplitude der ungestörten linearen Antwort.

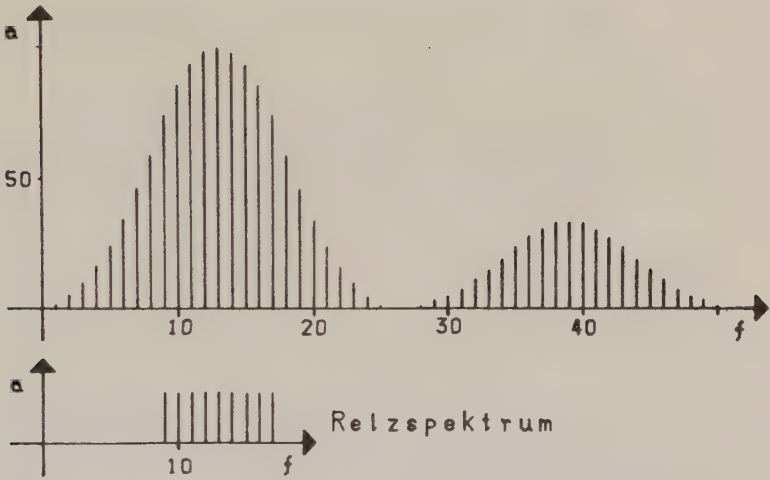


Abb. 3.5.1: Verteilung der kubischen Nichtlinearitäten bei gleich-hohen Reizamplituden eines komplexen Sinusreizes;
a: Amplitude ; f: Frequenz

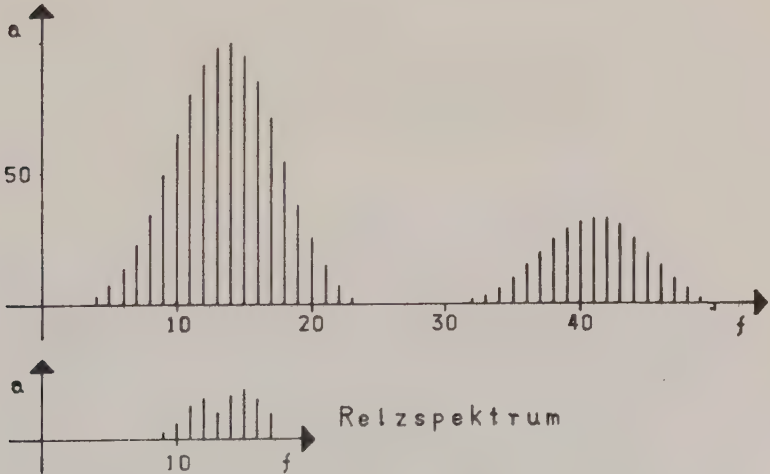


Abb. 3.5.2: Verteilung der kubischen Nichtlinearitäten bei unter-schiedlich hohen Reizamplituden eines komplexen Sinusreizes;
a: Amplitude ; f: Frequenz

Den Einfluß der kubischen Verzerrung beim komplexen Sinusreiz kann man sich auch durch folgende qualitative Überlegung veranschaulichen:

Man teilt das Reizfrequenzband in 2-er Gruppen auf, wobei jeweils die beiden Komponenten symmetrisch zur Mittenfrequenz liegen. Addiert man die beiden Anteile, so entsteht jedesmal eine Schwebung der Mittenfrequenz f_m , deren Amplitude durch die Differenzfrequenz zeitabhängig moduliert wird. Diese Anteile werden zum Reiz aufaddiert.

$$\begin{aligned}
 \sum_{i=-n}^{+n} a_i \cdot \sin(\omega_i t) &= \\
 &= \dots + a_{-1} \cdot \sin(\omega_{-1} t) + a_0 \cdot \sin(\omega_0 t) + a_1 \cdot \sin(\omega_1 t) + \dots = \\
 &= a_0 \cdot \sin(\omega_0 t) + \{ (a_{-1} + a_1) \cdot \cos \frac{(\omega_{-1} - \omega_1) t}{2} \} \cdot \sin \frac{(\omega_{-1} + \omega_1) t}{2} + \dots = \\
 &= a_0 \cdot \sin(\omega_0 t) + A_1(t) \sin(\omega_0 t) + \dots = \\
 &= \{ a_0 + \sum_{i=1}^n A_i(t) \} \sin(\omega_m t) \quad (\text{mit } \omega_m = \omega_0) \quad (3.5.2)
 \end{aligned}$$

Gleichung 3.5.2 zeigt also, daß der komplexe Sinusreiz als Einzelsinusreiz der Frequenz $f_m = \frac{1}{2}(f_u - f_o)$ mit zeitabhängiger Amplitude aufgefaßt werden kann. Deshalb ergibt sich für die Amplituden der Verzerrung bei der Frequenz f_m und der dazugehörigen 3. Harmonischen ein Verhältnis von 1:3, wie es für den Einzelsinus gültig ist.

Zusammenfassend soll also festgehalten werden:

Der Einfluß der kubischen Verzerrung auf das lineare Antwortspektrum läßt sich abschätzen, wenn die Amplitudenverteilung der 3. Harmonischen bekannt ist. Das 3-fache ihres Maximalwertes ist dann eine obere Grenze, um die die Werte des linearen Antwortspektrums gegenüber dem unverzerrten Fall angehoben sind.

Diese Anhebung wirkt sich im normierten Antwortspektrum besonders auf kleine Antwortamplituden aus. Das wird z. B. im folgenden Abschnitt zu sehen sein. Dort werden u. a. kubisch verzerrte Spektralantworten des Modellsystems "Photoelement" dargestellt, die mittels FIS gewonnen wurden.

3.6 Zusammenfassung: Komplexer Sinusreiz am Modellsystem

Bei der Bestimmung der spektralen Empfindlichkeit (SE) mit FIS dient ein komplexer Sinusreiz als Stimulus. Dieser Stimulus wird durch eine nichtlineare Übertragungsfunktion verzerrt. Aus der verzerrten Antwort wird Fourier-analytisch die lineare Antwort gewonnen, die als Berechnungsgrundlage für die SE dient.

Wenn man ein Signal Fourier-analytisch zerlegt, erhält man diejenigen Komponenten, die in linearer Kombination das Summensignal erzeugen. Die Fourier-Analyse ist somit ein lineares Analyseverfahren, dessen Funktion prinzipiell auf lineare Systeme (Gültigkeit des Superpositionsprinzips) beschränkt ist.

Um zu klären, ob und inwieweit sich die FIS-Methode dennoch zur Analyse nichtlinearer Sehsysteme einsetzen läßt, erschien es mir sinnvoll, den Einfluß von Nichtlinearitäten auf die Fourieranalyse methodisch zu studieren. Dazu wurden die Verzerrungen komplexer Sinusreize am Modellsystem mit unterschiedlichen Kennlinien numerisch simuliert und anschließend Fourier-analysiert.

Hierbei ergaben sich folgende Resultate:

Ein System mit einer nichtlinearen Übertragungsfunktion erzeugt Verzerrungen, die die Fourier-analytisch ermittelte lineare Antwort verfälschen können. Anders als beim Einzelreiz kann diese Verfälschung auch bei einer durch eine quadratische Potenzreihe beschreibbaren Kennlinie auftreten, jedoch nur, wenn das Reizfrequenzband mehr als eine Oktave umfaßt. Bleibt das Reizfrequenzband auf eine Oktave beschränkt, so liegen die bei der quadratischen Verzerrung auftretenden 2. Harmonischen und Intermodulationen außerhalb dieses Bereiches. Sind die nichtlinearen Spektralantworten ebenfalls Fourier-analytisch ermittelt, können sie als zusätzliche Informationsquelle dienen. Dazu werden aus der unverzerrten linearen Antwort die bei einer quadratischen Kennlinie zu erwartenden nichtlinearen Spektralanteile errechnet und mit dem Fourier-analytischen Ergebnis verglichen. Unterschiede in den Resultaten können z. B. durch den Phasengang des nichtlinearen Systems bedingt sein. Dieser kann

unter Umständen die nichtlineare Antwort gegenüber der theoretischen Vorhersage verkleinern.

Das vollständige Phasenspektrum, welches ebenfalls von der Fourier-Analyse ermittelt wird, enthält weitere Informationen bezüglich des untersuchten Systems. Je nach Art des Phasenganges im Grundfrequenzbereich und im Bereich der Nichtlinearitäten lassen sich Hinweise über eventuelle Totzeiten und Art bzw. Anordnung von Untersystemen gewinnen.

Diese Aussagen sind jedoch nur gültig, wenn der auf die Übertragungsfunktion wirkende Reiz frequenzmäßig auf eine Oktave beschränkt ist und sich die Systemnichtlinearität durch eine quadratische Kennlinie darstellen läßt.

Ist die Kennlinie nur durch eine kubische Potenzreihe näherbar, so wird die lineare Antwort gegenüber dem linearen oder quadratischen Fall verzerrt. Ähnlich wie beim Einzelsinusreiz ist das Spektrum der 3. Harmonischen ein Maß für diese Verzerrung.

Der qualitative Verlauf des linearen Antwortspektrums läßt sich jedoch auch noch bei einer kubischen Verzerrung angeben. Die Kurvenform wird bezüglich ihrer Extrema nicht verändert.

Wie sich später zeigen wird, ist eine genauere quantitative Betrachtung kubischer und höherer Verzerrungen nicht nötig, da sich die hier untersuchten biologischen Sehsysteme im allgemeinen gut durch eine quadratische Kennlinie nähern lassen.

4. FIS-Untersuchung am Modellsystem

4.0 Einführung

In den letzten Jahren wurde nach einer Idee von R. Gemperlein in dessen Arbeitsgruppe die Methode der Fourier-Interferometrischen Stimulation entwickelt¹⁾. Die FIS-Methode ist ein aktionsspektrometrisches Verfahren zur Bestimmung der spektralen Empfindlichkeit (SE) von biologischen Sehsystemen. Als Stimulus findet dabei ein komplexer Sinusreiz Verwendung, dessen Reizkomponenten eindeutig bestimmten Spektrallichtern zugeordnet sind. Durch die Fourier-Analyse der Antwort ist es deshalb prinzipiell möglich, den spektralen Gang und damit die SE des biologischen Systems zu bestimmen. Enthält das biologische System jedoch eine nichtlineare Übertragungsfunktion, so wird die Systemantwort verzerrt. Nach den Überlegungen der vorangehenden Kapitel ist dann eine wechselseitige Beeinflussung der Reizkomponenten zu erwarten, die gegebenenfalls die eindeutige Zuordnung zwischen Antwortfrequenzkomponente und spektralem Reizlicht zerstört. Damit würde dann auch die FIS-Methode zur Bestimmung der SE versagen.

Wie im vorherigen Abschnitt jedoch diskutiert wurde, tritt eine wechselseitige Beeinflussung der Fourier-Komponenten erst auf, wenn das Übertragungssystem über eine Kennlinie verfügt, die sich nur durch einen kubischen oder höheren Potenzreihenansatz darstellen läßt. Eine quadratische Kennlinie verzerrt bei einem 1-oktavigen Reiz die lineare Antwort nicht. Die Fourier-Analyse und damit auch die FIS-Methode sind ohne Fehler anwendbar.

Dies soll in den nächsten Kapiteln demonstriert werden. Dazu wird mit der FIS-Methode die SE des früher beschriebenen Modellsystems "Photoelement" unter verschiedenen Bedingungen untersucht.

In den bisherigen Überlegungen wurde immer von einem idealen

1) An der Entwicklung beteiligt waren: R. Gemperlein, R. Paul, E. Lindauer, A. Steiner

(theoretischen) System ausgegangen, da sich dafür die Kennlinien-
einflüsse einfacher untersuchen ließen. Vernachlässigt wurden dabei
die Einflüsse der experimentellen Anordnung, wie sie bei einer
praktischen FIS-Messung auftreten (z. B. Passwirkung etc.).

Die eventuellen Auswirkungen der Versuchsanordnung werden bei
den in diesem Abschnitt durchgeführten Experimenten berücksichtigt.
Dazu wird das elektronische Modellsystem wie ein biologisches
Untersuchungsobjekt in den Versuchsaufbau eingeordnet. Dieser
Aufbau ist bis auf die eigentliche elektrophysiologische Ablei-
tungsapparatur identisch mit der Anordnung, die zur FIS-Untersu-
chung von biologischen Objekten verwendet wird.

Bevor jedoch die experimentelle Anordnung in Kapitel 4.2 bespro-
chen wird, soll im nächsten Kapitel das FIS-Verfahren näher erläu-
tert werden.

4.1 Die FIS-Methode; ein dynamisches aktionsspektrometrisches Verfahren zur Bestimmung der spektralen Empfindlichkeit (SE)

Die FIS-Methode wurde schon in mehreren Veröffentlichungen genau
und ausführlich dargestellt (Gemperlein, 1980; Paul, 1981; Gemper-
lein, 1982; Gemperlein et. al., 1984). Der Vollständigkeit halber
soll hier ein kurzer Überblick gegeben werden, ohne jedoch auf
Details näher einzugehen. Dafür sei auf die oben genannten Publi-
kationen verwiesen.

Die FIS-Methode hat ihre Wurzeln in der Fourier-Spektroskopie
(FSP), die schon länger im infraroten und in neuerer Zeit auch im
sichtbaren Spektralbereich für spektroskopische Untersuchungen
eingesetzt wird.

Die FSP beruht auf dem Prinzip, daß die Frequenzverteilung
(Spektrum) einer Lichtquelle durch eine optische Fourier-Trans-
formation in ein sich zeitlich änderndes Signal (Zeitreihe) trans-
formiert wird, aus dem sich durch numerische Fourier-Transformation
das Spektrum der Lichtquelle wieder errechnen läßt. Wird die Licht-
quelle entweder vor oder nach dem optischen Transformator durch

eine absorbierende Substanz spektral modifiziert, liefert die numerische Fourier-Transformation dieses modifizierte Spektrum. Nach Normierung mit dem Reizlichtspektrum erhält man somit das Absorptionsspektrum, die "SE" der Probe.

Gemperlein schlug vor, dieses Verfahren auf biologische Systeme zur aktionsspektrometrischen Bestimmung der SE zu übertragen. Dabei wird die in das Zeitsignal transformierte Lichtquelle als Reiz verwendet und die Aktion des biologischen Systems auf diesen Stimulus Fourier-analysiert.

Aufgrund der Art des Reizes wird dieses Verfahren als Fourier-Interferometrische-Stimulation (FIS) bezeichnet.

Sowohl bei der FSP als auch bei FIS dient ein Michelson-Interferometer als optischer Fouriertransformator. Das Michelson-Interferometer besteht aus einer Strahlteiler- und Spiegel-Anordnung, die einen Lichtstrahl in zwei Teilbündel zerlegt, diese unterschiedliche optische Wegdifferenzen zurücklegen läßt und anschließend die beiden Teilbündel wieder vereinigt. Dabei entstehen Interferenz-Erscheinungen, die zum einen von der Wellenlänge des eingestrahnten Lichtes und zum anderen von der optischen Wegdifferenz abhängen. Diese Wegdifferenz kann durch eine gleichmäßige Spiegelverschiebung linear verändert werden. Die dadurch erzeugte Interferenz für eine monochromatische Lichtquelle ist eine cosinusförmige Intensitätsmodulation, deren Frequenz linear von der Spiegelgeschwindigkeit abhängt und umgekehrt proportional zur Lichtwellenlänge ist. Für eine polychromatische Lichtquelle kann man sich folglich den nach dem Interferometer vorliegenden Lichtreiz als eine Superposition unendlich vieler monochromatischer Sinuskomponenten verschiedener Frequenzen vorstellen. Dieses superponierte Signal wird als Interferogramm bezeichnet; es ist die Schwebung der mit unterschiedlichen Frequenzen modulierten Spektralelemente.

Bei einem optischen Gangunterschied $\Gamma = 0$, der "Weißlichtposition", interferieren die Teilstrahlen aller Spektralkomponenten konstruktiv. Damit wird das Ausgangssignal maximal und farblich gleich der Lichtquelle. Bei zunehmendem Gangunterschied bleiben die Interferenzen der einzelnen Spektralelemente wegen der unterschied-

lichen Modulationsfrequenzen nicht in Phase. Deshalb löschen sich je nach Spiegelposition unterschiedliche Spektralbereiche aus und das das Interferometer verlassende Licht erscheint verschieden hell und farbig.

Wird der Gangunterschied immer größer ($\Gamma \gg$ Lichtwellenlänge), so unterscheiden sich immer enger benachbarte Spektralelemente hinsichtlich der Phasenlagen ihrer Interferenzmodulation. Damit wird auch der Spektralabstand zwischen konstruktiv und destruktiv interferierenden Zonen immer kleiner. Löst ein lichtempfindliches System diese sich abwechselnden Zonen komplementärer Interferenz spektral nicht mehr auf, so nimmt es einen zeitlich konstanten Lichtpegel wahr, der farblich gleich der Lichtquelle erscheint. Bezüglich des Weißlichtpunktes hat seine Intensität jedoch auf die Hälfte abgenommen, da im Mittel einhalb aller Spektralkomponenten durch destruktive Interferenz ausgelöscht werden.

Je nach SE des lichtempfindlichen Systems wird das von ihm registrierte Interferogramm also unterschiedlich schnell abklingen und sich aus verschiedenen Frequenzkomponenten zusammensetzen. Hat ein Untersuchungsobjekt z. B. eine sehr schmalbandige SE und reagiert deshalb nur auf einen engen Spektralbereich des Reizinterferogramms, so wird ein Antwortinterferogramm auch noch für große Spiegelverschiebungen registriert, da nur wenige Frequenzkomponenten mit gering unterschiedlicher Frequenz eine langandauernde Interferogrammschwebung erzeugen.

In Abb. 4.1.1 ist beispielhaft ein Antwort-Interferogramm dargestellt. Als Lichtquelle wurde dabei eine Xenonlampe verwendet, als Lichtempfänger ein breitbandiger Photomultiplier. Unter dem Interferogramm sind in der Nähe der Weißlichtposition die Farben aufgetragen, die ein menschlicher Beobachter in Abhängigkeit der optischen Wegdifferenz wahrnimmt. Diese Farben sind keine monochromatischen Lichter, sondern entstehen durch teilweise spektrale Auslöschung des Lampenspektrums. Dies wird noch einmal in Abb. 4.1.2 gezeigt. Hier ist die spektrale Interferenz für 3 verschiedene optische Gangunterschiede schematisch dargestellt. Man erkennt dabei, daß sich je nach Wegdifferenz das Reizlicht aus unterschiedlichen Spektralkomponenten zusammensetzt.

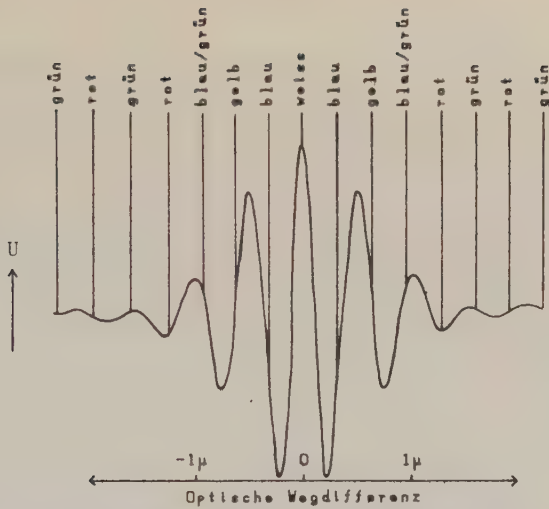


Abb. 4.1.1: Elektrische Interferogramm-Antwort U eines breitbandigen Photomultipliers und subjektive Wahrnehmung der Reizlichtfarbe bei verschiedenen optischen Wegdifferenzen.

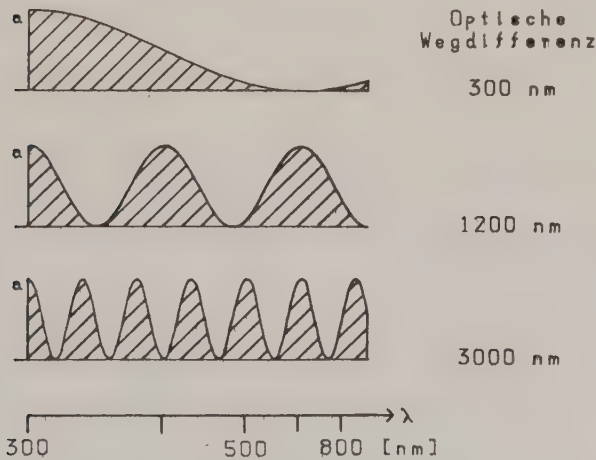


Abb. 4.1.2: Spektralverteilung des Reizlichtes bei drei verschiedenen Wegdifferenzen; die Lichtquelle wurde als spektral glatt angenommen (nach Gemperlein, unveröffentlicht).

Trifft der Interferogrammstimulus auf ein lichtempfindliches System werden gemäß seiner SE (Absorption) die einzelnen spektralen Sinuskomponenten unterschiedlich absorbiert. Im Fall des Photoelement-Modell-Systems¹⁾ führt jede Spektralkomponente zu einer sinusförmig modulierten elektrischen Antwort, deren Antwortgröße (abgesehen von Skalierungsfaktoren) nur von der Reizgröße und der Absorptionswahrscheinlichkeit des Photoelements für dieses Spektralelement abhängt. Die mit unterschiedlicher Frequenz modulierten Spektralantworten superponieren sich zum Antwort-Interferogramm. Wird dieses elektronisch aufgezeichnet und numerisch Fourier-analysiert, erhält man das Antwortspektrum für die verschiedenen Reizfrequenzen. Da jeder Reizfrequenz eindeutig eine bestimmte Spektralkomponente zugeordnet ist, läßt sich das Antwortspektrum auch in Abhängigkeit der Reizlichtwellenlängen darstellen. Wird (wie im Fall des Photoelements für nicht zu große Frequenzen) das Verhältnis zwischen spektraler Antwort und spektralem Reiz nur durch die Absorptionswahrscheinlichkeit beeinflusst, so erhält man die SE des zu untersuchenden Systems, wenn die auf das Reizlicht normierten Antwortamplituden wellenlängenabhängig aufgetragen werden.

Zeigt das Untersuchungsobjekt jedoch einen spürbaren Frequenzgang im Reizfrequenzband, muß man noch diesen Faktor berücksichtigen. Jede Reizkomponente wird neben der wellenlängenabhängigen Absorptionswahrscheinlichkeit zusätzlich mit einem von der Reizfrequenz abhängigen Faktor bewertet. Deshalb muß das Antwortspektrum mit dem Frequenzgang korrigiert werden, um die exakte SE-Kurve zu erhalten.

Aufgrund des früher erwähnten Zusammenhanges zwischen Reizlichtwellenlänge und interferometrisch erzeugter Modulationsfrequenz werden bei der FIS-Methode zwei im Verhältnis 1:2 stehende Wellenlängen im Frequenzverhältnis 2:1 moduliert. Bei Einschränkung des Reizlichtes auf ein 1-oktaviges Spektralband entsteht also auch

1) Für die Sehzelle wird dieser Punkt noch einmal ausführlich in Kapitel 6.1 diskutiert.

ein frequenzmäßig eine Oktave umfassender komplexer Sinusreiz. Damit ist es möglich, mit FIS auch quadratisch verzerrte Systeme exakt zu analysieren. Wie im Abschnitt 3 abgeleitet wurde, stören die auftretenden Mischfrequenzen und höheren Harmonischen die lineare Analyse nicht.

Die Reizeinschränkung muß nicht notwendigerweise das Reizlicht betreffen, sondern es genügt, wenn das Signal bei einem mehrstufigen System erst vor der nichtlinearen Verzerrung auf eine Frequenzoktave beschränkt ist. Auf diesen Punkt wird noch einmal in Kapitel 6.1 eingegangen.

Die FSP zeigt gegenüber anderen spektroskopischen Verfahren viele prinzipielle Vorteile, die sich auch auf FIS übertragen lassen. Diese Vorteile sind in der eingangs zitierten Literatur beschrieben. Deshalb sollen hier nur einige weitere Eigenschaften von FIS aufgeführt werden, die speziell für biologische Systeme von Bedeutung sind.

Im Gegensatz zu herkömmlichen monochromatischen Reizformen bietet FIS einen polychromatischen Reiz. Durch diese gleichzeitige mehrkomponentige Messung wird eine wesentlich kürzere Meßzeit erreicht. Zum zweiten ist der bei der FIS-Methode verwendete Reiz im zeitlichen Mittel konstant hinsichtlich spektralen Gehalts und Intensität. Damit befindet sich ein biologisches lichtempfindliches System auf einem definierten Adaptationsniveau und in einem bestimmten biochemischen Zustand. Nur in Nähe der Weißlichtposition werden diese Parameter geringfügig variiert.

Es sei noch erwähnt, daß die Reizlichtzusammensetzung im Interferogramm symmetrisch zur Weißlichtposition ist. Damit wird während der Reizdauer die Abfolge der sich ändernden Lichtzusammensetzung in der Reizmitte invertiert. Da die Fouriertransformation sich mittelnd auf den Datensatz auswirkt, kann eine abfolgespezifische Systemreaktion (abhängig von ihrer Art) unter Umständen unterdrückt werden.

Weiterhin ist die FIS-Methode ein dynamisches Meßverfahren. Deshalb zeigt statisches Zusatzlicht keinen Einfluß auf die Messung. Damit eignet sich FIS besonders für Adaptationsexperimente,

wie z. B. im Kapitel 6.2 gezeigt werden wird. Durch weißes Zusatzlicht ist es prinzipiell auch möglich, den Modulationsgrad von FIS zu erniedrigen. Dies ist vor allem dann von Nutzen, wenn eine stark nichtlineare Kennlinie quadratisch genähert werden muß. Wie sich später zeigt, ist dies bei den untersuchten biologischen Objekten nicht der Fall.

Abschließend sollen noch einige Eigenschaften der numerischen Fouriertransformation beleuchtet werden, soweit sie im Rahmen dieser Arbeit zum besseren Verständnis der Ergebnisse von Nutzen sind.

Bisher wurde allgemein von Spektralkomponenten des Reizes gesprochen, obwohl ein kontinuierliches Reizspektrum vorliegt. Der Begriff "Spektralkomponente" erklärt sich durch die Verwendung des numerischen Algorithmus für die Fourier-Analyse, der Fast Fourier Transformation (FFT). Die FFT liefert für eine feste Transformationsgröße $N = 2^n$ (Anzahl der erfaßten Datenpunkte) als Ergebnis das Antwortspektrum für $N/2$ ganzzahlige Frequenzindizes. Diese ganzzahligen Frequenzindizes geben an, wie oft eine Schwingung in das Datenfenster der Größe N fällt. Der Datensatz wird also nach ganzzahligen Sinusschwingungen analysiert. Im Frequenzbereich wirkt die FFT wie eine Anordnung sich überlappender Bandfilter. Alle Spektralanteile innerhalb eines Bandfilters tragen (durch die Form des Filters¹⁾ gewichtet) zum Amplitudenwert eines Frequenzindex bei. Die so summierten Spektralanteile werden als Spektralkomponenten bezeichnet. Für eine feste Datensatzgröße N geben diese Spektralkomponenten die hypothetische numerische Auflösung an. In der Praxis jedoch werden nur kleinere Datenmengen erfaßt, und dieser Datensatz wird mit seinem Mittelwert zur Größe N aufgefüllt. Deshalb ist die nach dem Rayleigh-Kriterium definierte spektrale Auflösung und damit die Zahl der unterscheidbaren Spektralkompo-

1) Die Form der Filter wird neben der Transformationsgröße durch eine über dem Datensatz liegende Fensterfunktion bestimmt. In dieser Arbeit wird das Hamming-Fenster verwendet, welches zwar die Filterbreite vergrößert, gleichzeitig aber das Übersprechen zwischen benachbarten Elementen verkleinert.

nenten durch die reale Datensatzlänge gegeben. Der qualitative Zusammenhang zwischen Datensatzlänge und Auflösung läßt sich leicht durch folgende Überlegung verstehen:

Um zwei Frequenzen f_1 und f_2 aus ihrer Schwebung zu berechnen, muß die vollständige Schwebung bekannt sein. Dann ist es möglich, aus der Modulationsfrequenz $f_1 + f_2$ und der Schwebungsfrequenz $f_1 - f_2$ die Einzelkomponenten zu bestimmen. Je näher jedoch die beiden Frequenzen zusammenliegen, um so länger wird die Schwebung andauern. Anders ausgedrückt wird also mit größer werdendem Datensatz mehr Information über näher zusammenliegende Spektralelemente vermittelt und damit die Auflösung erhöht.

Die FFT-Frequenzindices und die realen Reizfrequenzen sind zueinander proportional. Andererseits wurde früher darauf hingewiesen, daß die Reizfrequenzen umgekehrt proportional zu den Wellenlängen der Reizlichtkomponenten sind. Dies bewirkt, daß die berechneten Fourier-Amplituden bei der Auftragung über einer Wellenlängenskala nicht mehr äquidistant liegen. Auch die im Frequenzbereich konstante Auflösung wird wellenlängenabhängig, wenn sie in den Wellenlängenbereich transformiert wird. Sie verbessert sich mit abnehmender Wellenlänge. Diese höhere Auflösung ist neben anderen Effekten (Abnahme der Reizlichtintensität, größerer Abtastfehler bei der Datenerfassung) eine Ursache dafür, daß die mit der FIS-Methode ermittelten Spektren im kürzerwelligen Spektralbereich eine höhere Streuung der Datenpunkte zeigen.

Zusammenfassend soll am Ende dieses Kapitels festgehalten werden:

Die Fourier-Interferometrische-Stimulation (FIS) dient zur aktionsspektrometrischen Untersuchung der spektralen Abhängigkeit eines lichtempfindlichen Systems. Dazu wird eine Lichtquelle durch ein Michelson-Interferometer moduliert, wobei die Modulationsfrequenzen der Spektralkomponenten umgekehrt proportional zu ihren Wellenlängen sind. Das als Interferogramm bezeichnete Summenmodulationssignal wird als Stimulus für ein lichtempfindliches System verwendet, welches den Reiz durch seine spektrale Empfindlichkeit, seinen Frequenzgang und eventuelle nachgeschaltete Nichtlinearitäten in die Antwort überführt. Im linearen oder nichtlinear-quadratischen Fall (bei Ein-

schränkung des Frequenzbandes) ist es möglich, aus der Fourier-analytisch gewonnenen Antwort die SE zu errechnen, wenn der Frequenzgang des Systems bekannt ist.

Eine Eigenschaft dieser mit FIS ermittelten SE-Kurven ist eine Zunahme der Datenpunktdichte bei gleichzeitiger Erhöhung der Auflösung im kürzerwelligen Spektralbereich. Die Anzahl der aufgelösten Spektralelemente erhöht sich ebenfalls mit zunehmender Länge des zu transformierenden Datensatzes.

Die FIS-Methode wird in diesem Kapitel nur in einem Überblick ohne Details dargestellt. Genauere Beschreibungen finden sich in der eingangs erwähnten Literatur. Die Eigenschaften der Fourier-Transformation selbst und die Methoden der FSP sind in der Aspen International Conference von /Loewenstein, 1970/ und anderen Autoren zusammengefaßt.

4.2 FIS-Versuchsaufbau und Meßapparatur

Der FIS-Versuchsaufbau ist in Abb. 4.2.1 schematisch dargestellt. Bis auf den elektromechanischen Scanner wird auf alle Einzelkomponenten und das in Abb. 4.2.1 nicht eingezeichnete Datenverarbeitungssystem in /Paul, 1981/ ausführlich eingegangen. Deshalb wird die Versuchsanordnung hier nur im Überblick besprochen.

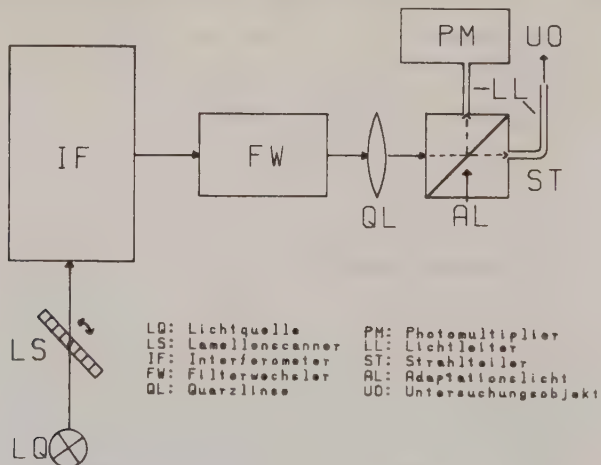


Abb. 4.2.1: Schematischer Aufbau der Versuchsanordnung

Als Lichtquelle wird eine Xenon-Hochdrucklampe XB0150W/4¹⁾ mit Quarzkondensor verwendet. Das Licht der Lampe passiert einen elektromechanischen Lamellenscanner CCX101²⁾. Mit diesem Scanner kann der Lichtstrom durch Verdrehen des Lamellengitters reguliert werden. Winkelauslenkung und Abschattung sind dabei über eine Sinusfunktion verknüpft. Es ist jedoch möglich, bei kleiner Winkelauslenkung und geeigneter Justage der Scanner-Null-Lage in guter Näherung einen linearen Zusammenhang zwischen benötigter Steuerungsspannung und Abschattung herzustellen. Diese Linearität kann Fourier-analytisch untersucht werden, wenn man den Scanner sinusförmig ansteuert und das modulierte Lichtsignal auf den Gehalt der Harmonischen überprüft. Diese Überprüfung ergab, daß für die praktische Anwendung die Verzerrung vernachlässigt werden kann (Werte: Modulationsgrad = 82%, Harmonische < 2%). Der Scanner wird im Normalfall vom Computer angesteuert. Für FIS-Messungen befindet er sich in der Ruhelage (Mittelstellung). Dadurch wird erreicht, daß FIS- und Scanner-Modulation um das gleiche mittlere Niveau erfolgen.

Der Scanner wird in dieser Arbeit für drei Aufgaben benutzt:

- a) Feststellung der Modulationsgradabhängigkeit bei fester Intensität und fester Frequenz (standardmäßig 7 Hz)³⁾: Dazu wird der Scanner mit unterschiedlichem Modulationsgrad vom Rechner sinusförmig angesteuert und die Antwort eines Untersuchungsobjektes (nach elektrischer Anpassung) digital erfaßt. Diese erfaßte Antwort wird für mehrere Sinusschwingungen (max. = 16) im Zeitbereich gemittelt und anschließend Fourier-analysiert (128 Werte-FFT). Damit ist bei einer Reizfrequenz von 7 Hz eine theoretische

-
- 1) Hersteller: Osram. Der hier bezeichnete Typ hat einen Suprasilglaskolben für die höhere UV-Ausbeute.
 - 2) Hersteller: General Scanning, Inc. Das Lamellengitter wurde in der feinmechanischen Werkstatt des Hauses hergestellt.
 - 3) Dieser Wert ist der ungefähre Frequenzmittelwert des FIS-Reizbandes.

Auswertung bis zur 9. Harmonischen gegeben.

Der Programmablauf erfolgt automatisch, wobei der Modulationsgrad von rechnerisch 100% um jeweils 10% erniedrigt wird. Der zum rechnerischen Maximalwert gehörige reale Modulationsgrad ist von der elektronischen Scannereinstellung und seiner mechanischen Justage abhängig. In dieser Arbeit beträgt er standardmäßig 82%.

Nach Ablauf des Programms werden die Fourier-analytisch ermittelten Amplitudenwerte für die Harmonischen in Abhängigkeit des Modulationsgrades ausgegeben. Beispiele für diese Anwendung des Scanners wurden bisher in Kapitel 2.5 gegeben.

Die 2. Aufgabe des Scanners ist:

- b) Aufnahme der Modulationskennlinie bei konstantem Modulationsgrad und konstanter Frequenz (Standard: 7 Hz):

Mit einem (später beschriebenen) Graufilterwechsler wird ein bestimmtes Intensitätsniveau eingestellt. Um dieses Niveau wird mit einem Scanner sinusförmig moduliert, wobei der Modulationsgrad vom Rechner vorgebar ist. Die Systemantwort wird wie unter a) beschrieben erfaßt, gemittelt und Fourier-analysiert. Das Ergebnis wird vom Rechner ausgegeben.

Der Programmablauf erfolgt nur jeweils für eine Intensitätsstufe automatisch, da die Graufilter per Hand gewechselt werden müssen. Beispiele für diese Anwendung wurden bisher in Kapitel 2.3 gegeben.

Die 3. Aufgabe des Scanners ist:

- c) Aufnahme des Frequenzganges bei fester Intensität und festem Modulationsgrad:

Dazu wird der Scanner mit verschiedenen Frequenzen angesteuert und die jeweilige lineare Antwortamplitude des Untersuchungsobjektes Fourier-analytisch ermittelt. Nach Korrektur mit dem Scanner-Frequenzgang erhält man somit den Amplituden-Frequenz-

gang des Systems. Abhängig von seinem Verlauf wird er eventuell zur Korrektur von FIS-Messungen benötigt (siehe Kapitel 4.1).

Zur Ermittlung des Frequenzganges wurden verschiedene Reizmethoden getestet, die im folgenden erläutert werden sollen¹⁾:

1) Der Rendreiz

Zum FIS-Reiz wird zusätzlich vom Scanner modulierte Weißlicht addiert. Die Scannermodulation erfolgt durch einen 2-komponentigen Sinusreiz, dessen Frequenzen knapp oberhalb bzw. unterhalb der linearen FIS-Antwort liegen. Damit erhält man im Antwortspektrum zwei Stützpunkte für den Frequenzgang und kann die dazwischenliegenden Punkte durch eine Geradeninterpolation ermitteln. Der Vorteil der Methode ist die gleichzeitige Messung von SE und Frequenzgang. Aufgrund der verschiedenen Nachteile aber (Änderung des experimentellen Aufbaus; Einflüsse von FIS-Nichtlinearitäten auf die Stützpunkte; nur 2 Randpunkte zur Beschreibung des Frequenzganges) wird dieses Verfahren nur noch in Spezialfällen angewandt.

2) Der Bandreiz (komplexer Sinusreiz)

Dabei wird mit mehreren Komponenten innerhalb einer Frequenzoktave gleichzeitig gereizt; die linearen Antwortkomponenten werden Fourier-analytisch ermittelt. Sie sind die Stützpunkte des Frequenzganges. Der große Vorteil dieser Methode ist die gleichzeitige mehrkomponentige Reizung. Die Messung selbst kann allerdings nicht parallel zu FIS erfolgen, weil sich beide Reize frequenzmäßig mischen (Intermodulationsstörung). Nachteilig wirkt sich die Beschränkung der Scannermodulation aus: Hat eine Reizkomponente den Modulationsgrad $m = m_{\max}$, so haben n Reizkomponenten mit der Anfangsphase $q_1 = 0$ (wegen ihrer Amplitudenaddition im "Weißlichtpunkt") nur noch jeweils einen Modulationsgrad von $\frac{m_{\max}}{n}$ (bei

1) Die Frequenzgangtests wurden hauptsächlich von R. Paul entwickelt.

Gleichverteilung der Amplituden). Werden diese Reizamplituden n mal gemittelt (Erhöhung der Meßzeit um Faktor n), so wird das Signal-Rausch-Verhältnis um einen Faktor $\sqrt{n}$ besser (Sakai, 1970, Gemperlein, Smola, 1972c). Andererseits bringt eine n -fache Amplituden-erhöhung in einem Einzelreiz eine Signal-Rausch-Verbesserung um den Faktor n . Dabei ist die Meßzeit für n Einzelreizkomponenten unterschiedlicher Frequenz ähnlich zur Meßzeit des gemittelten komplexen Sinusreizes. Ob unterschiedliche Startphasenlagen und damit eine Verschmierung des Superpositionsmaxims eine wesentliche Verbesserung hinsichtlich der Reizamplituden bringen, muß noch quantitativ untersucht werden. Experimentelle Untersuchungen deuten darauf hin, daß dies nicht der Fall ist (R. Paul, mündliche Mitteilung). Bezüglich eines günstigen Signal-Rausch-Verhältnisses ist deshalb die nachfolgende Reizform besser, auch wenn der Vorteil der Gleichzeitigkeit aufgegeben werden muß.

3) Der Einzelkomponentenreiz

Diese Reizform unterscheidet sich von 2) nur dadurch, daß die Reizkomponenten hintereinander (in frequenzmäßig aufsteigender Anordnung) auf das Untersuchungssystem treffen. Jede Reizkomponente besteht dabei aus mehreren Schwingungen, um ein Einschwingen des Antwortsystems zu gewährleisten. Die Amplitude der eingeschwingenen Antwort wird Fourier-analytisch ermittelt. Danach wird vom Rechner die nächste Reizkomponente erzeugt und die dazugehörige Antwort berechnet. Dies wiederholt sich, bis alle Reizfrequenzanteile ausgegeben worden sind. Das Programm startet dann mit einer neuen Runde und mittelt dabei die neu errechneten Antwortamplituden zu den früheren Resultaten. Neben den zuletzt berechneten Werten werden dabei auch die aktuellen Mittelwerte auf dem Computer-Sichtgerät dargestellt. Dem Experimentator ist es deshalb möglich, die Güte der Messung laufend zu bewerten. Durch Knopfdruck wird dem Rechner der Programmabbruch signalisiert. Nach Beendigung der gerade stattfindenden Mittelungsrunde und Korrektur mit den gleichzeitig erfaßten Reizamplituden steht der Amplituden-Frequenz-Gang

des Systems an den durch die Reizfrequenzen gegebenen Stützpunkten zur Verfügung. Für benötigte Werte zwischen diesen Punkten wird linear interpoliert. Vorteilhaft bei diesem Test ist die "on line"-Kontrolle des gemessenen Ergebnisses; nachteilig kann sich eventuell die sequentielle Messung der Reizkomponenten auswirken.

Zur Ermittlung des Frequenzganges, der gegebenenfalls zur Korrektur der FIS-Messungen benötigt wird, dient vor allem die zuletzt genannte Reizmethode 3). Dabei wird die Frequenzantwort an 7 Stützpunkten zwischen 4 und 10 Hz aufgezeichnet. Eine Meßrunde dauert ca. 10 sec. Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen wurden im Normalfall ca. 5 - 20 Runden gemittelt. Die Mittelwerte hatten sich dann auf eine Schwankung von weniger als 5% stabilisiert.

Anzumerken ist noch, daß in den meisten Fällen eine Korrektur der FIS-Daten vernachlässigt werden konnte, da sich der Frequenzgang der untersuchten Objekte im betroffenen schmalen Frequenzbereich zwischen ca. 5 und 9 Hz oft durch eine Konstante oder Gerade mit geringer Steigung darstellen ließ.

Dies stimmt überein mit den an *Calliphora erythrocephala* durchgeführten Frequenzgang-Untersuchungen anderer Autoren (Fritz, 1977; Smola, Gemperlein, 1972b; Zettler, 1969; Kuiper, Leutscher-Hazelhoff, 1965; Gemperlein, McCann, 1975 mittels Weißem Gaußschen Rauschen)¹⁾.

Bei den drei vorangehend dargestellten Anwendungsmöglichkeiten der Weißlichtmodulation darf das Michelson-Interferometer, welches im Versuchsaufbau (Abb. 4.2.1) dem Scanner folgt, nicht zusätzlich den Lichtstrahl modulieren oder spektral verfälschen. Deshalb befindet sich der bewegliche Spiegel der Interferometer-Anordnung bei Scanner-Experimenten in Ruhe und weit entfernt von der Weißlichtposition.

Der interferometrische Aufbau²⁾, das Kernstück der FIS-Appara-

-
- 1) Messungen anderer Autoren zum Amplituden-Frequenzgang der in dieser Arbeit untersuchten Schmetterlinge sind mir nicht bekannt.
 - 2) Er wurde in der feinmechanischen Werkstatt des Hauses hergestellt.

tur, ist ausführlich in /Paul, 1981/ und /Gemperlein et al., 1984/ beschrieben.

Es erfolgt deshalb nur eine kurze Zusammenfassung:

Das Michelson-Interferometer besteht aus einer Eintrittsoptik, einem Strahlteiler, einem festen und einem beweglichen Spiegel und einer Austrittsoptik. Mechanisch sind diese Komponenten in einem massiven Aluminiumgehäuse untergebracht. Dieses Gehäuse wird durch ein Heizkissen und eine Temperaturregelung¹⁾ thermostabilisiert, da sonst eine thermische Ausdehnung eine Dejustage der Interferometeranordnung verursacht. Zur Vermeidung von zusätzlichen Erschütterungseinflüssen steht der mechanische Aufbau (Lampe, Scanner, Interferometer, Filterwechsler) auf einem schwingungsdämpfenden Unterbau aus Styroporblöcken und untergelegten Luftreifen.

Die Relativposition des beweglichen Interferometerspiegels wird durch einen He-Ne-Laser kontrolliert. Das monochromatische Lasersignal wird bei linearem Spiegelvortrieb im Interferometer sinusförmig moduliert. Durch das Mitzählen der Modulationsperioden und gleichzeitiger Kontrolle der Sinusform des Lasersignals ist eine definierte lineare Fahrweise und eine exakte Positionskontrolle des Interferometerspiegels möglich. Dies geschieht durch eine Kontrollelektronik²⁾. Sie bewegt den Interferometerspiegel symmetrisch um die Weißlichtposition hin und her und erzeugt die zur digitalen Datenerfassung benötigten Triggersignale. Die He-Ne-Laserlinie $\lambda_L = 632.8\text{nm}$ wird (bedingt durch die von der Regelung vorgegebene Spiegelgeschwindigkeit) mit 4.6 Hz moduliert. Pro Schwingungsperiode werden dabei 8 äquidistante Digitalisierungssignale generiert. Bei einer 1024-Werte-FFT passen folglich 128 λ_L in den Datensatz. Damit ist der 4.6 Hz-Modulation der Frequenzindex 128 zugeordnet. Der höchste, durch die halbe Transformationslänge gegebene, Frequenzindex beträgt 512. Dies entspricht einer maximal

1) Die Temperaturregelung ist eine Eigenentwicklung nach Applikationsvorschlägen.

2) Die Kontrollelektronik ist eine Eigenentwicklung.

erfassbaren Frequenz von 18.4 Hz.

Durch die Regelungs-kontrollierte Datenerfassung ist es möglich, mehrere Interferogramm-Reize und -Antworten im Zeitbereich zu mit-teln. Weiterhin läßt sich mit der Regelung die maximale Spiegelver-schiebung und damit die gewünschte Auflösung festlegen. Bei den meisten in dieser Arbeit aufgenommenen Spektren wurde eine optische Weglänge von mindestens 30 Wellenlängen der He-Ne-Laserlinie $\lambda_L = 632.8\text{nm}$ erfasst. Dies entspricht einer Mindestauflösung (für $30 \lambda_L$) von $\Delta\lambda \approx 7\text{nm}$ bei 350nm und $\Delta\lambda \approx 22\text{nm}$ bei 650nm. Die durch die Regelung vorgegebene Geschwindigkeit der Spiegelverschiebung erzeugt eine Modulationsfrequenz von 4.5 Hz bei 650nm und 8.3 Hz bei 350nm. Bei einer Modulationsfrequenz von 4.6 Hz pro λ_L ergibt sich die Meßzeit t für $30 \lambda_L$ zu $t \approx 7 \text{ sec}$. Da bei Reizmittelung die beiden Umkehrphasen und der nicht ausgewertete Rücklauf des Interferometers berücksichtigt werden müssen, vergrößert sich die Meßzeit für den Einzelreiz auf $t \approx 20 \text{ sec}$.

Wie in Abb. 4.2.1 weiter dargestellt, passiert das aus dem In-terferometer austretende Reizlicht einen Filterwechsler¹⁾. Dieser Filterwechsler enthält die Quarzgraufilter zur Einstellung der ge-wünschten Intensitätsniveaus. Er wird elektronisch kontrolliert und kann auch vom Rechner angesteuert werden. Bisher wurde dieses System jedoch noch nicht an den Laborcomputer adaptiert.

Das den Filterwechsler verlassende Reizlicht wird durch eine Quarzlinse auf den Eingang eines Quarzlichtleiters gebündelt, der den Stimulus zum untersuchten Objekt leitet.

Vor dem Lichtleiter sitzt noch im 45°-Winkel eine Strahlteiler-platte²⁾, die das Lichtbündel im Verhältnis von ca. 10% Reflexion und 90% Transmission aufteilt. An dieser Stelle im Versuchsauf-bau ist es möglich, einerseits einen Teil des Reizes zur Reiz-erfassung auszublenden und andererseits ein Adaptationslicht zum

1) Die Mechanik des Filterwechslers wurde in der hauseigenen Werk-statt gebaut. Die Elektronik ist eine Eigenentwicklung.

2) Die Strahlteilerplatte ist ein Kantenfilter WG280, Schott

Interferogrammstimulus dazuzumischen.

Das ausgeblendete Reizlicht wird (ebenfalls über einen Quarzlichtleiter) einem Photomultiplier¹⁾ zugeführt. Das von ihm erzeugte elektrische Ausgangssignal wird verstärkt, gefiltert und über einen Analog-Digital-Converter (12 bit-ADC) zu einem 16 bit-Mini-Rechner²⁾ weitergeleitet. Parallel dazu wird in ähnlicher Weise das Antwort-Signal des Untersuchungsobjektes aufbereitet.

Die Datenerfassung wird wie oben erwähnt durch die externe Interferometer-Regelung gesteuert. Der Rechner dient hauptsächlich dazu, die über den ADC erfaßten Datensätze zu verarbeiten³⁾. Diese Verarbeitung erstreckt sich auf Mittelung, Aufbereitung (Korrektur, Multiplikation mit Fensterfunktion ect.) und Fourier-Analyse der Daten. Zusätzlich ist am Rechner eine Ausgabeeinheit (Bildschirm, XY-Plotter) angeschlossen, die eine graphische Darstellung der Daten in jedem Stadium der Verrechnung ermöglicht. Weitere Details hinsichtlich Soft- und Hardware sind aus /Paul, 1981/ zu entnehmen.

Werden die erfaßten Reiz- und Antwort-Interferogramme (nach eventueller Multiplikation mit einer Fensterfunktion) numerisch Fourier-transformiert, so erhält man als Ergebnis die (unkorrigierten) "Roh"-Spektren. Im Fall des Reizspektrums muß dieses mit der Detektor-Empfindlichkeitskurve verrechnet werden, um das wirkliche Spektrum der Lichtquelle zu erhalten.

Zur Bestimmung der SE des Untersuchungsobjektes muß das Reiz-(Energie-)Spektrum über die Beziehung $E = N \cdot h \cdot \nu$ in die Quantenzahlen N umgerechnet werden⁴⁾. Wie im letzten Kapitel am Beispiel des Photoelements dargestellt, erhält man die SE direkt durch Division des Antwortspektrums und des (zweifach korrigierten) Reizspektrums.

1) Typ RCA-1P28/V1, RCA

2) Alpha-LSI, Computer Automation Inc.

3) Die dazu benötigten Programme wurden zum größten Teil von R. Paul entwickelt. Weiter beteiligt waren N. Fritz, R. Gemperlein und A. Steiner

4) Zur Definition der spektralen Empfindlichkeit siehe Kapitel 6.1

Nur im Fall eines nicht zu vernachlässigenden Frequenzganges muß das Ergebnis der Division noch damit korrigiert werden.

Um zum einen den experimentellen Aufbau und die Methode zu testen, und zum anderen das Reizlichtspektrum zu ermitteln, wird abschließend ein gemessenes Lampenspektrum mit der Angabe des Herstellers verglichen.

Dabei muß man jedoch berücksichtigen, daß das Fourier-analytisch ermittelte Amplitudenspektrum die Energie pro Frequenzintervall darstellt (siehe Kapitel 4.1). Das mit einem Monochromator gemessene Lampenspektrum des Herstellers ist jedoch in Energie pro Wellenlängenintervall geeicht. Deshalb ist folgende Korrektur am Meßergebnis durchzuführen:

Die Beziehung $\lambda = \frac{c}{\nu}$ (c = Lichtgeschwindigkeit) beschreibt den Zusammenhang zwischen Wellenlänge λ und Frequenz ν . Daraus ergibt sich:

$$d\lambda = \lambda_1 - \lambda_2 = \frac{c \cdot (\nu_2 - \nu_1)}{\nu_1 \cdot \nu_2}$$

Für das Produkt $\nu_1 \cdot \nu_2$ kann in guter Näherung (bei kleinem $d\lambda$)

$$\nu_1 \cdot \nu_2 = \bar{\nu}^2 = \left(\frac{\nu_1 + \nu_2}{2} \right)^2 \quad \text{gesetzt werden.}$$

$$\text{Damit folgt: } d\lambda = \frac{c}{\bar{\nu}^2} \cdot d\nu \quad \text{bzw.} \quad d\nu = \frac{c}{\lambda^2} \cdot d\lambda, \quad \text{wobei } d\nu = \nu_2 - \nu_1$$

Für die mit dem FIS-Aufbau bestimmte Reizamplitude $\frac{E}{d\nu}$ (E = Energie) gilt folglich:

$$\frac{E}{d\nu} = \frac{E}{\frac{c}{\lambda^2} \cdot d\lambda} \sim \frac{E}{\bar{\nu}^2 \cdot d\lambda}$$

Um also die vom Hersteller angegebenen Werte $\frac{E}{d\lambda}$ (bis auf einen Skalierungsfaktor) zu erhalten, muß das FIS-Amplitudenspektrum mit $\bar{\nu}^2$ (oder dazu proportionalen Modulationsfrequenzen) korrigiert werden.

Das Ergebnis nach Durchführung dieser Korrektur ist in Abb. 4.2.2 dargestellt. Dort sind für den Wellenlängenbereich zwischen

300nm und 800nm das mit FIS gemessene und vom Hersteller angegebene Lampenspektrum übereinandergezeichnet ¹⁾.

Berücksichtigt man die geringere Auflösung der FIS-Messung, so decken sich beide Kurven sehr genau. Das für die Experimente benutzte Reizlicht ist also spektral mit dem Licht der Xenonlampe identisch. Noch vorhandene Abweichungen sind vor allem in den Spektralcharakteristiken des Lichtbogens, der Optik und des Interferometers begründet. Die spektralen Eigenschaften des Fourier-Interferometers werden näher in /Gemperlein et al., 1984/ abgehandelt.

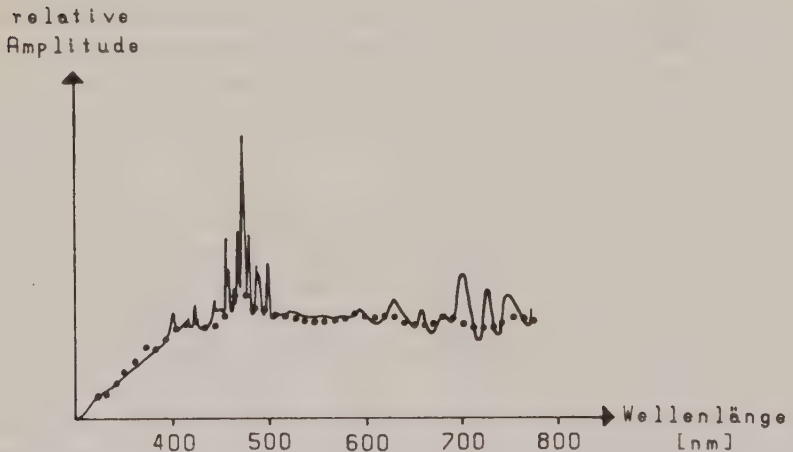


Abb. 4.2.2: Vergleich des vom Hersteller gemessenen Lampenspektrums (durchgezogene Linie) mit dem FIS-Ergebnis (Punkte). Zu berücksichtigen ist die geringere Auflösung der FIS-Messung.

1) Die FIS-Messung über diesen Bereich erfolgte mit einem Photomultiplier Hamamatsu R758, der uns kurzzeitig zur Verfügung stand.

Am Ende dieses Kapitels sollen noch einmal die wichtigsten Standard-Versuchsparameter tabellarisch zusammengestellt werden. Eventuelle signifikante Abweichungen von diesen Werten werden bei den einzelnen Experimenten angegeben.

Weißlichtmodulation:

Modulationsgrad: Maximal 82%

(= Modulationsgröße $M = 1$ in den Abbildungen)

Modulationsfrequenz: 7 Hz

(bei Frequenzgang-Test zwischen 4 und 10 Hz)

Zeitdauer pro Reiz: 1 sec (7 Perioden)

(Bei Frequenzgang-Test für alle Frequenzkomponenten 10 sec)

Maximale Mittlungszahl: 16×7 Perioden

(bei Frequenzgang-Test unbegrenzt)

FIS-Modulation:

Maximaler Modulationsgrad m an der Weißlichtposition:

abhängig von der SE des untersuchten Systems
(SE sehr schmalbandig : $m \rightarrow 100\%$ ¹⁾), unter
experimentellen Bedingungen und mit der SE
der untersuchten Objekte : $m \approx 80\%$)

Modulationsfrequenzband: 4.5 Hz - 8.3 Hz bei 650 nm - 350 nm

Zeitdauer pro Einzelreiz bei einem maximalen optischen Gangunterschied von $30\lambda_L \approx 19\mu\text{m}$: 7 sec (Einzelmessung); 20 sec (Mittelung)

Maximale Mittelungszahl: unbegrenzt

Rayleigh-Auflösung: 7nm bei 350nm; 22nm bei 650nm (bei $30\lambda_L$)

Berechnungsart: 1024-Werte-FFT mit Hamming-Fenster.

Digitalisierungsrate = 36.8 Hz

1) theoretisch; in der Praxis noch von der Güte des optischen Aufbaus abhängig.

4.3 Einfluß von Nichtlinearitäten auf die FIS-Methode; experimentelle Untersuchung am Modellsystem

In den letzten beiden Kapiteln wurde u. a. die Ähnlichkeit des FIS-Reizes mit einem komplexen Sinusreiz angesprochen. Deshalb ist zu erwarten, daß die mit FIS gewonnenen Ergebnisse ähnlich verzerrt sind, wie es beim komplexen Sinusreiz der Fall ist. Der Einfluß von Nichtlinearitäten auf den komplexen Sinusreiz wurde im Abschnitt 3 hauptsächlich mit Computer-Simulationen untersucht. Im Gegensatz dazu werden in diesem Kapitel reale FIS-Messungen durchgeführt. Um jedoch durch das Untersuchungsobjekt verursachte Ergebnisschwankungen weitestgehend auszuschließen, wird der im Kapitel 2.2 besprochene elektronische Versuchsaufbau mit Photoelement als stabiles Modellsystem verwendet. Damit ist gleichzeitig eine Messung ohne elektronische Pässe möglich. Diese Meßart ist günstig, wenn die nichtlinearen Antwortkomponenten des Systems frequenzmäßig nicht beschnitten werden sollen.

Die SE des Modellsystems wird durch vorgesetzte Filter¹⁾ so modifiziert, daß im mit FIS ermittelten Spektralbereich eine definierte Empfindlichkeitskurve entsteht.

In Abb. 4.3.1 ist neben den Rohkurven die gemessene SE der Filter-Photoelement-Kombination dargestellt. Wie im letzten Kapitel darauf hingewiesen wurde, werden die Rohkurven direkt aus der numerischen Fouriertransformation von Reiz- und Antwortinterferogramm gewonnen. Der Reiz wird bei FIS-Messungen mit einem Photomultiplier aufgezeichnet. Die mit "Lampe" bezeichnete Kurve entspricht deshalb einem Reizspektrum, welches mit der Spektralcharakteristik des Photomultipliers modifiziert wurde. Um die wirkliche Spektralverteilung des Reizlichtes zu erhalten, muß diese Kurve mit der Photomultiplier-Charakteristik korrigiert werden (siehe auch Kapitel 4.1 und 4.2).

1) Als Filter wurden verwendet: 1 x KG 3/2mm, 1 x BG 18/5mm,
1 x BG 20/1mm von Schott/Mainz

Das mit "Antwort" bezeichnete Rohspektrum stellt die Fourier-Transformation des Antwortinterferogrammes dar, das in diesem Fall vom Modellsystem mit linearer Kennlinie (Eingangswiderstand $X = 0$) geliefert wird. Beide Rohkurven sind auf ihr Maximum normiert. Die Abszisse wird durch die FFT-Frequenz-Indices bzw. den zugeordneten Real-Frequenzen linear geteilt.

Im Gegensatz dazu ist die aus den (korrigierten) Rohspektren errechnete SE-Kurve (Abb. 4.3.1.b) über der Wellenlängenskala aufgetragen. Sie ist ebenfalls auf das Maximum normiert. Ihr kurzwelliger Abbruch ist durch die Bedingung Antwortgröße $< 5\%$ gegeben. Der langwellige Spektralbereich wird zusätzlich durch die kleiner werdende Empfindlichkeit des zur Reizerfassung dienenden Photomultipliers begrenzt. Aus diesem Grund wird die Berechnung der SE aus den Rohkurven bei maximal 660 nm beendet.

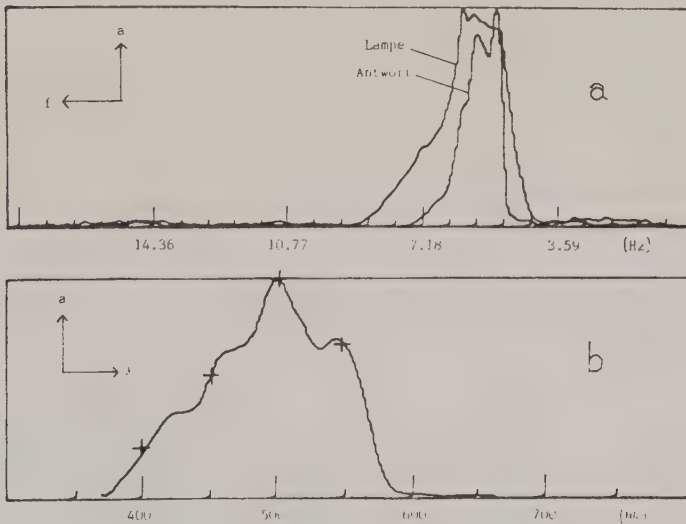


Abb. 4.3.1: Fourier-analytisch ermittelte Rohkurven (a) und Spektrale Empfindlichkeit (b) des Filter/Photoelement-Modells; Zu b): Kreuze: Aus den Herstellerangaben zu den Einzelelementen berechnete Spektralwerte.

a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ; λ : Wellenlänge

In Abb. 4.3.1b ist für einige Punkte auch die aus den Herstellerangaben des Lampenspektrums, der Filterspektren und der Photoelementcharakteristik numerisch berechnete SE eingetragen. Diese Werte stimmen sehr gut mit der durch FIS ermittelten Spektralkurve überein.

Nach den bisherigen Überlegungen ist zu erwarten, daß eine nichtlineare Übertragungsfunktion die Fourier-analytisch bestimmte Spektralkurve des Untersuchungsobjektes beeinflusst. Um dies experimentell zu zeigen, wurde das Modellsystem nichtlinear beschaltet ($X = 1 \text{ M}\Omega$). Nach den Aussagen von Kapitel 2.2 wird dadurch die Übertragungsfunktion abhängig vom mittleren Reizintensitätsniveau. Bei sehr niedrigen Intensitäten ist der Reiz/Antwort-Zusammenhang linear, mit zunehmender Beleuchtungsstärke wird er nichtlinear und geht in einen logarithmischen Zusammenhang über. Diese Kennlinie ist noch einmal in Abb. 4.3.2 aufgetragen. In Abb. 4.3.3 sind die dazugehörigen (auf das Maximum normierten) Modulationskennlinien für die 1., 2., und 3. Harmonische dargestellt. Sie wurden mit einem Modulationsgrad $m \approx 50\%$ ermittelt. Die 1. Harmonische gibt (bei Vernachlässigung des kubischen Einflusses) die Steigung der halb-logarithmisch gezeichneten Rechteckkennlinie (Abb. 4.3.2) an, die 2. und 3. Harmonische jeweils den Grad der Verzerrung. Man erkennt, daß die Kennlinie am stärksten im Übergangsbereich zwischen linearem und logarithmischem Zusammenhang verzerrt ist. Im logarithmischen Bereich ist das Verhältnis zwischen quadratischer und kubischer Verzerrung näherungsweise konstant. Vor allem im Übergangsbereich treten auch noch Harmonische vom Grad $n > 3$ auf. Ihr Anteil bleibt aber gering und wird im folgenden vernachlässigt.

In Abb. 4.3.2 sind 4 Punkte der Rechteckkennlinie besonders gekennzeichnet. In diesen Arbeitspunkten wurden FIS-Messungen durchgeführt (Abb. 4.3.4 bis 4.3.7). Die Ergebnisse sollen nun der Reihe nach besprochen werden:

In Abb. 4.3.4a,b ist die FIS-Messung für den Arbeitspunkt 1 dargestellt. Die Kennlinie ist in diesem Punkt noch in hohem Maß linear. Die Anteile der 2. und 3. Harmonischen können vernachlässigt werden

(Abb. 4.3.3). Dies zeigen auch die Rohkurven der Spektralmessung (Abb. 4.3.4a). Es treten nur merkliche Antwortkomponenten im Reizfrequenzband auf. Deshalb ist die ermittelte SE-Kurve deckungsgleich mit der linear ermittelten aus Abb. 4.3.1b. Diese "Soll"-Kurve ist in den Abb. 4.3.5b bis 4.3.7b gestrichelt eingezeichnet.

In Abb. 4.3.5 ist das Ergebnis der FIS-Messung im Arbeitspunkt 2 dargestellt. Hier ist schon eine starke quadratische, aber noch eine schwache kubische Verzerrung meßbar (siehe 2. und 3. Harmonische in Abb 4.3.3). Auch die Roh-Antwortkurve der Spektralmessung (Abb. 4.3.5a) zeigt eine starke Reaktion im Frequenzband der 2. und der Subharmonischen. Dennoch weicht die SE-Kurve von der gestrichelten Soll-Kurve nur ganz geringfügig ab.

Im Arbeitspunkt 3 hat der Anteil der quadratischen Verzerrung relativ zur kubischen abgenommen (Abb. 4.3.3). Im Frequenzspektrum der Rohantwort (Abb. 4.3.6a) ist dies jedoch nicht direkt zu sehen, da die kubischen Verzerrungsanteile den gesamten dargestellten Spektralbereich verschmieren. Dementsprechend wird auch die Grundoktave der Antwort verzerrt und die errechnete SE-Kurve zeigt wenig Übereinstimmung mit der realen Kurve (Abb. 4.3.6b). Wie im Kapitel 3.5. abgeschätzt, tritt der Verzerrungseinfluß bei der normierten Rohkurve besonders bei kleinen Antwortamplituden auf. Es kommt noch hinzu, daß zur Berechnung der SE-Kurve Antwort- und Reizspektrum dividiert werden. Da das Reizspektrum zum kürzerwelligen abfällt, wird hier, wie in Abb. 4.3.6b ersichtlich, die Absolutabweichung am größten.

Im Arbeitspunkt 4 ist der Reiz/Antwort-Zusammenhang in guter Näherung logarithmisch. Die quadratische und kubische Verzerrung haben wieder abgenommen und sind konstant (Abb. 4.3.3). Die 1., 2., und 3. Harmonische verhalten sich wie 100% : 26% : 9% (bei $m = 82\%$). Die Rohantwortkurve zeigt ebenfalls eine Abnahme der Verzerrung (Abb. 4.3.7a). Die dazugehörige SE-Kurve weicht dennoch merklich vom Soll-Wert ab.

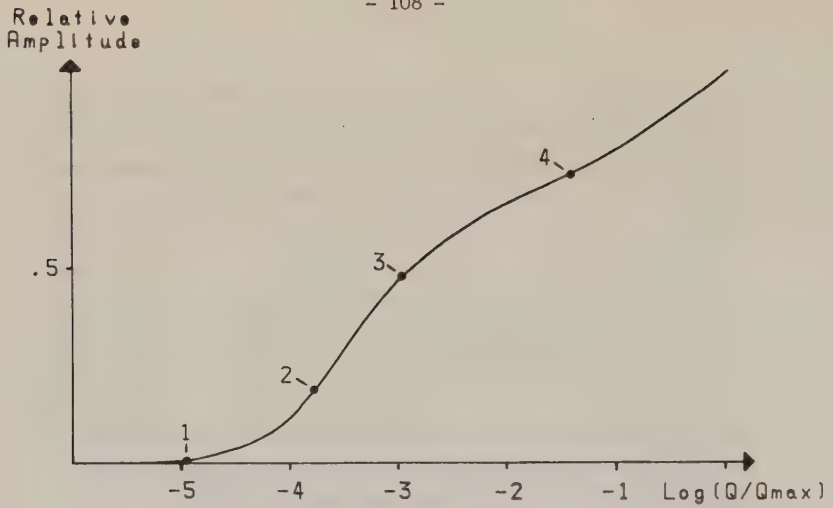


Abb. 4.3.2: Rechteckkennlinie des Photoelement-Modells bei einem Widerstand $X=1 \text{ M}\Omega$;
Die Punkte 1-4 bezeichnen die mittleren Intensitätsniveaus für die in Abb. 4.3.4 - 4.3.7 dargestellten FIS-Messungen .

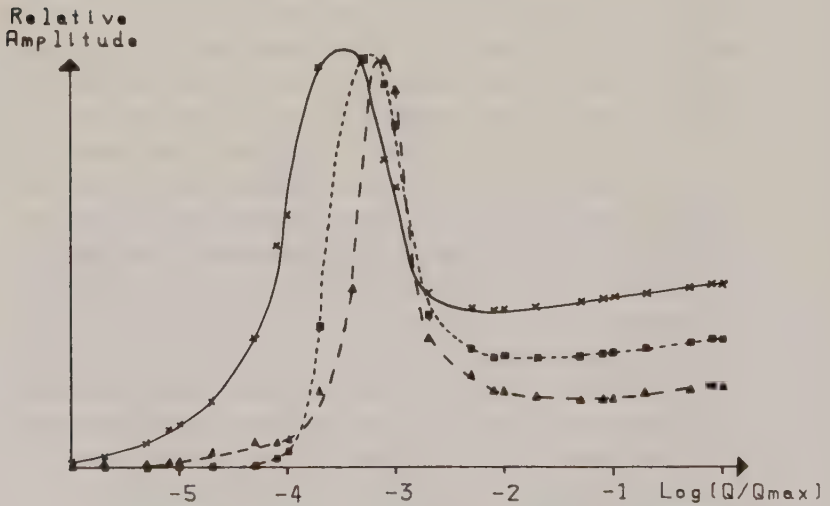


Abb. 4.3.3: Modulationskennlinie der 1. (*), 2. (■) und 3. Harmonischen (▲) des Photoelement-Modells bei $X=1 \text{ M}\Omega$;
Die eingezeichneten Punkte sind Meßwerte.

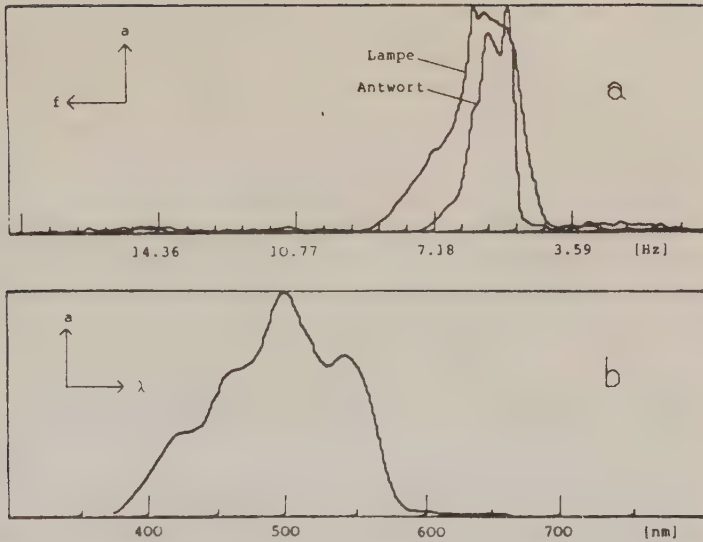


Abb. 4.3.4: Rohkurven (a) und Spektrale Empfindlichkeit (b) des Photoelement-Modells im Arbeitspunkt 1 aus Abb. 4.3.2;

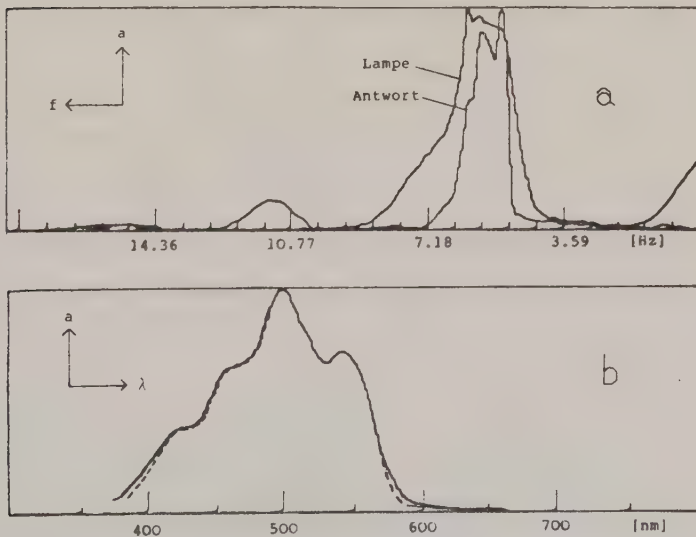


Abb. 4.3.5: Rohkurven (a) und Spektrale Empfindlichkeit (b) des Photoelement-Modells im Arbeitspunkt 2 aus Abb. 4.3.2;
Gestrichelt: Unverzerrte Spektrale Empfindlichkeit

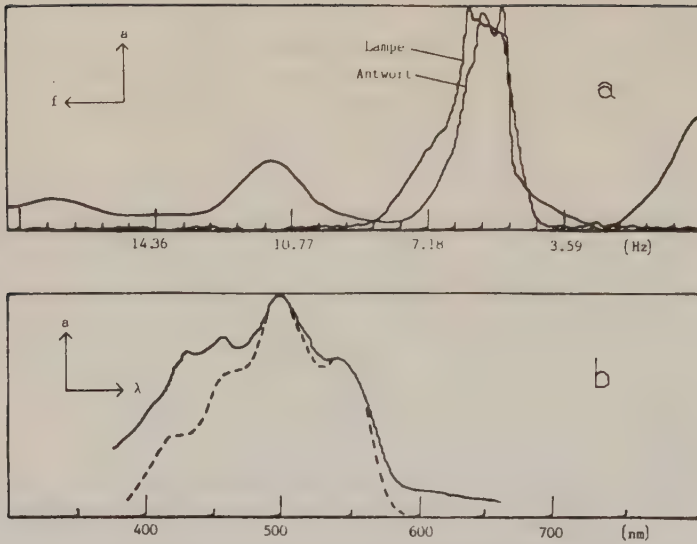


Abb. 4.3.6: Rohkurven (a) und Spektrale Empfindlichkeit (b) des Photoelement-Modells im Arbeitspunkt 3 aus Abb. 4.3.2; Gestrichelt: Unverzerrte Spektrale Empfindlichkeit

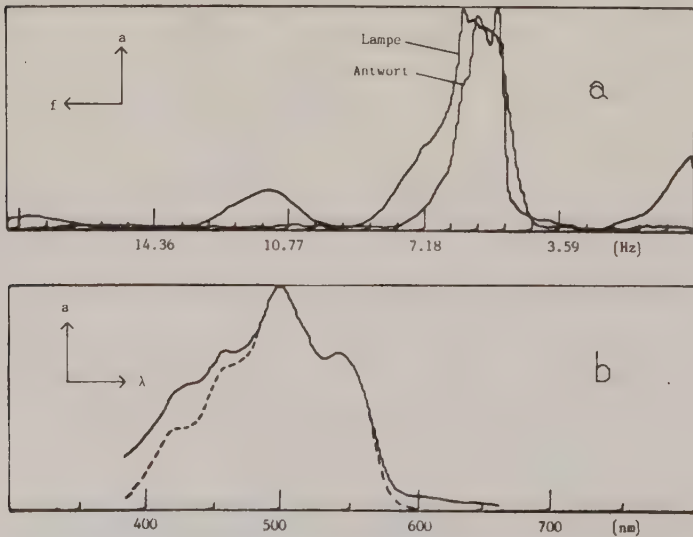


Abb. 4.3.7: Rohkurven (a) und Spektrale Empfindlichkeit (b) des Photoelement-Modells im Arbeitspunkt 4 aus Abb. 4.3.2; Gestrichelt: Unverzerrte Spektrale Empfindlichkeit

Wie erwartet, wirken sich also Übertragungsnichtlinearitäten auf einen FIS-Spektralreiz und einen mehrkomponentigen Weißlicht-Sinusreiz in gleicher Weise aus. Um somit eine exakte Bestimmung der SE durchzuführen, darf die Übertragungsfunktion für den FIS-Reiz höchstens aus einer quadratischen Potenzreihe bestehen. Daß eine rein quadratische Verzerrung keinen Einfluß auf die SE-Kurve hat, soll noch einmal in Abb. 4.3.8 bis 4.3.10 gezeigt werden. In Abb. 4.3.8a ist das Antwort-Interferogramm des Modellsystems mit linearer Kennlinie dargestellt. Dieses Antwortinterferogramm führt durch Fourier-Transformation zum Roh-Antwortspektrum (Abb. 4.3.9a).

Gleichzeitig wurde das Antwort-Interferogramm an einer Kennlinie der Form $y = \alpha x + \beta x^2$ numerisch verzerrt (Abb. 4.3.8b) und Fourier-transformiert (Abb. 4.3.9b). Aus beiden Rohkurven wurde jeweils die SE berechnet und beide Ergebnisse in Abb. 4.3.10 übereinander gezeichnet. Dabei zeigt sich, daß beide SE-Kurven graphisch so identisch sind, daß sie im Rahmen der Zeichengenauigkeit nicht aufgelöst werden können.

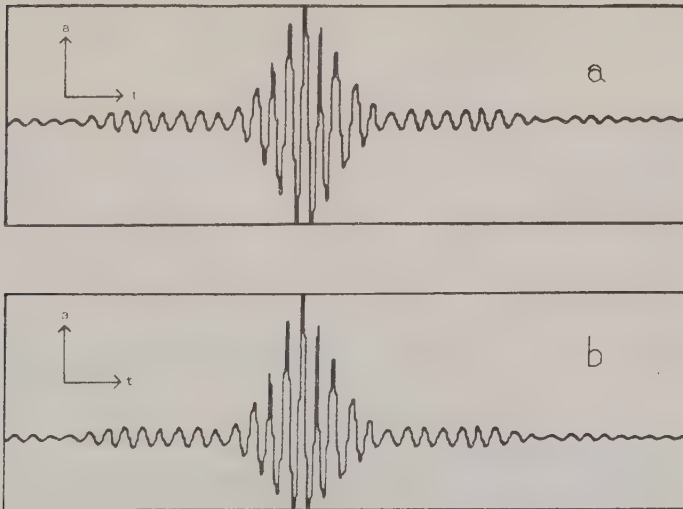


Abb. 4.3.8: Lineares (a) und quadratisch verzerrtes (b) Antwort-Interferogramm des Photoelement-Modells;
a: Relative Amplitude ; t: Zeit ;

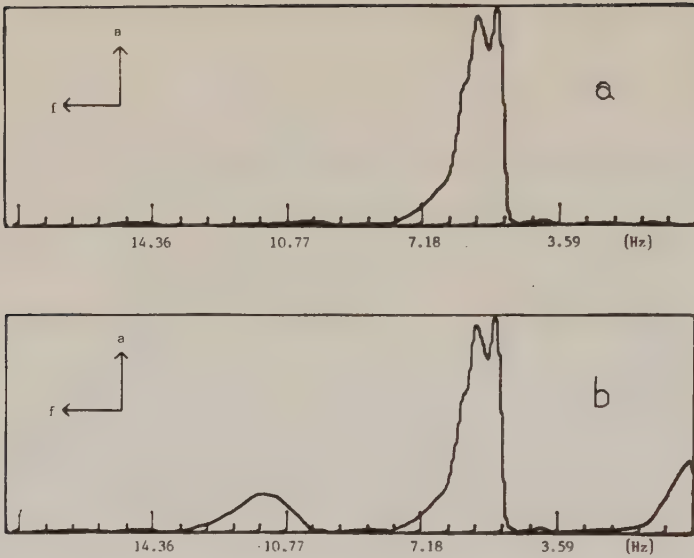


Abb. 4.3.9: Rohantwortkurven des Photoelement-Modellsystems bei linearer (a) bzw. quadratischer (b) Verzerrung;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ;

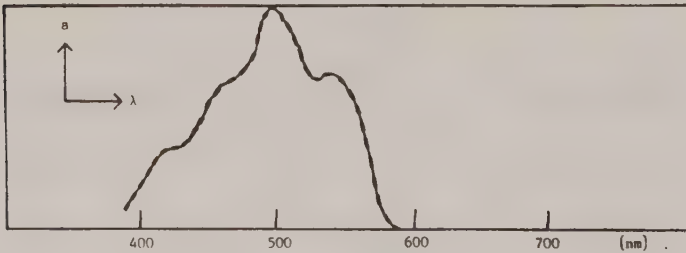


Abb. 4.3.10: Spektrale Empfindlichkeit des quadratisch verzerrten Photoelement-Modellsystems;
Gestrichnet: Unverzerrte Spektrale Empfindlichkeit
a: Relative Amplitude ; λ: Wellenlänge

Zusammenfassend kann also festgehalten werden:

FIS-Messungen unterliegen denselben Verzerrungs-Einflüssen, wie sie für den komplexen Sinusreiz analysiert wurden. Treten im Frequenzspektrum auch Antwortkomponenten in der 3. Harmonischen auf, so führt dies zu einer verzerrten linearen Roh-Antwort. Die nachfolgende Normierung mit dem Reiz-Spektrum zur Berechnung der SE vergrößert dort den Absolut-Fehler vor allem im kurzwelligen Bereich.

Allerdings bleibt bei mäßiger Verzerrung die qualitative Form der SE-Kurve erhalten.

Eine exakte quantitative Bestimmung der SE eines nicht-linearen Systems ist jedoch nur möglich, wenn der FIS-Reiz vor der Nichtlinearität auf eine Frequenzoktave beschränkt ist und nur quadratisch verzerrt wird. In diesem Fall verhält sich das System linear bezüglich der Fourier-analytisch ermittelten Antwort.

An dieser Stelle sei noch einmal darauf hingewiesen, daß sich ähnlich zur Methode der klassischen Linearisierung eine quadratische Kennlinien-Näherung immer erreichen läßt, wenn der Modulationsgrad beschränkt wird.

4.4 Prinzipien der Entzerrung einer verzerrten FIS-Antwort

In diesem Kapitel sollen Methoden beschrieben werden, mit denen versucht wurde, ein logarithmisch verzerrtes (Antwort-) Interferogramm so zu entzerren, daß nur noch unverzerrte lineare Antwortkomponenten in ihm enthalten sind. Daraus sollte es dann möglich sein, die ungestörte Spektralantwort Fourier-analytisch zu ermitteln.

Eine einfache Methode scheint die elektrische Bandpassung des Antwort-Interferogramms zu sein. Wird z. B. ein verzerrter Einzelsinus durch einen schmalbandigen Bandpass geschickt, so erhält man bei geeigneter Einstellung an dessen Ausgang (scheinbar) die entzerrte Sinusschwingung. Dementsprechend zeigt auch die Fourier-Analyse des Ausgangssignals nur noch frequenzmäßig die Komponenten der Grundschiwingung, da durch den Pass andere Frequenzanteile unterdrückt werden. Wie jedoch die Überlegungen für den Einzelsinus (Kapitel 2.4) gezeigt haben, werden durch eine kubische Verzerrung

direkt Anteile erzeugt, die mit der Grundschiwingung frequenzmäßig zusammenfallen. Durch einen Pass, der notwendigerweise die Grundschiwingung ungefiltert übertragen sollte, lassen sich deshalb diese Verzerrungsanteile nicht mehr unterdrücken; sie verfälschen unabgeschwächt die lineare Antwort.

Der gleiche Sachverhalt gilt natürlich auch für FIS und allgemein für komplexe Sinusreize: Ein an einer kubischen Nichtlinearität verzerrtes Interferogramm enthält neben den unverzerrten linearen Antwortkomponenten im ganzen Frequenzbereich bis zur 3. Harmonischen Störanteile unterschiedlicher Stärke. Durch einen Bandpass, dessen Durchlaßbereich auf das Reizfrequenzband beschränkt ist, können die Störanteile in den Frequenzbereichen außerhalb der Grundschiwingungen (Bereich der 2., 3. Harmonischen und Subharmonischen) weggepasst werden. Im interessierenden Bereich der 1. Harmonischen jedoch, wirken sie sich weiterhin störend aus.

Dies ist in Abb. 4.4.1 dargestellt. Die scheinbar lineare Rohkurve (ohne Sub- und höhere Harmonische) wurde aus einem logarithmisch verzerrten Antwort-Interferogramm durch Bandpassung gewonnen (Abb. 4.4.1a). Die aus dieser Roh-Antwort berechnete SE weicht jedoch in gleicher Weise von der realen SE-Kurve (gestrichelt) ab (Abb. 4.4.1b), wie es für das ungepasste Interferogramm in Abb. 4.3.7 gezeigt wurde. Eine geeignete Bandfilterung führt also zu einem Antwort-Interferogramm, welches wie das lineare Interferogramm frequenzmäßig nur noch auf das Reizfrequenzband beschränkt ist. Die linearen Antwortkomponenten werden aber nicht wirklich entzerzt, da die in das Reizfrequenzband fallenden Störanteile vom Bandpass nicht beeinflußt werden.

Im Gegensatz zu der oben besprochenen scheinbaren Entzerrung durch elektrische Filterung, sollen nun drei Methoden vorgestellt werden, die zu einer realen Antwort-Linearisierung führen:

Die erste Methode hat den Vorteil, daß sie "on-line" wirksam ist und direkt das Antwort-Interferogramm entzerzt. Das entzerzte Signal kann dann normal weiterverarbeitet werden (Filterung, Erfassung, Verrechnung). Nachteilig an der Methode ist, daß erstens eine zeit-

lich stabile Kennlinien-Funktion und zweitens ihre genaue Kenntnis nötig ist. Das Prinzip dieses Verfahrens beruht auf folgender einfacher Überlegung:

Wenn ein System A ein unverzerrtes Signal $x(t)$ in ein verzerrtes Signal $y(t)$ transformiert, also $y = f_A(x)$, so muß ihm nur ein invers verzerrendes System B nachbeschaltet werden, um das Signal $y(t)$ zu entzerren. Ist $z(t)$ die Antwort des Systems B, gilt folglich:

$$z = f_B y(t) = f_B f_A(x) = x \quad , \quad \text{mit } f_A^{-1} = f_B$$

Ausgehend von diesem Prinzip wurde eine elektronische Schaltung entworfen, die ein logarithmisch verzerrtes Interferogramm mit einer exponentiellen Kennlinie (Dioden-Kennlinie) entzerzt. Um die Basen des Logarithmus und der Exponentialfunktion anzugleichen, wurde das Eingangssignal um einen (regelbaren) Faktor v verstärkt. Bei geeigneter Einstellung von v wird das Eingangssignal y in das delogarithmierte Ausgangssignal z überführt:

$$z = e^{v \cdot y} = e^{v \cdot \log_b x} = x \quad , \quad \text{wobei } v = \frac{1}{\log_b e}$$

Der richtige Wert von v wurde im praktischen Versuch per Handeinstellung ermittelt, in dem ein verzerrtes Einzelsinus-Signal durch Änderung von v solange verformt wurde, bis es optisch der Sinus-Funktion glich¹⁾.

Das Ergebnis dieser elektronischen Entzerrung ist in Abb. 4.4.2 dargestellt: Die Rohkurve weist nur noch vernachlässigbare Nicht-linearitäten auf (Abb. 4.4.2a). Die SE-Kurve ist ebenfalls unverzerrt und fällt mit der Soll-Kurve zusammen.

Genau das gleiche Ergebnis liefern auch zwei weitere Entzerrungsmethoden. Abb. 4.4.2 ist deshalb auch für sie gültig.

- 1) Die Erfahrung zeigt, daß ein geübter Beobachter eine Verzerrung der Sinusform im Prozentbereich mit dem Auge feststellen kann.

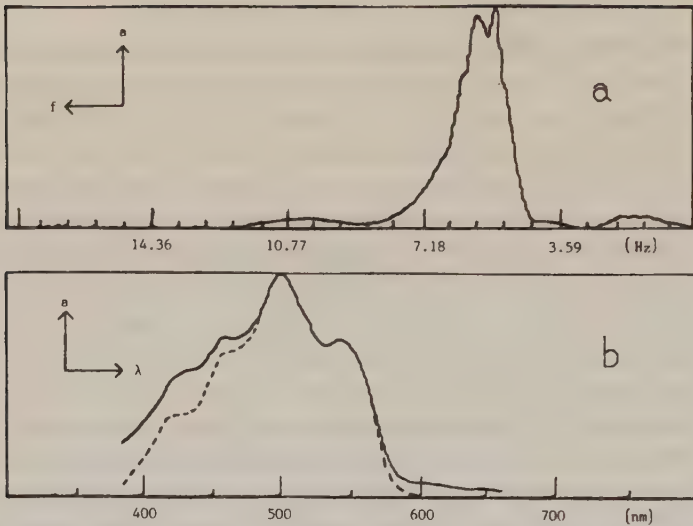


Abb. 4.4.1: Rohantwortkurve (a) und Spektrale Empfindlichkeit (b) des verzerrten Photoelement-Modells bei Bandpassung;
Gestrichelt: Unverzerrte Spektrale Empfindlichkeit
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ; λ : Wellenlänge

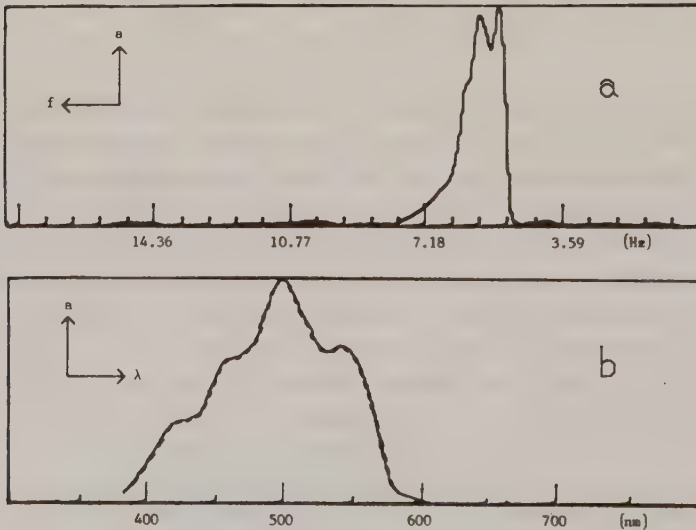


Abb. 4.4.2: Rohantwortkurve (a) und Spektrale Empfindlichkeit (b) des verzerrten Photoelement-Modells nach elektronischer Entzerrung;
Gestrichelt: Unverzerrte Spektrale Empfindlichkeit

Die folgende Methode ist im Gegensatz zum ersten elektronischen Verfahren ein numerischer "off-line" Algorithmus. Dies ist dann von Vorteil, wenn keine genaue Kenntnis über die Kennlinienfunktion existiert. Da die Daten rechnerisch erfaßt sind, können sie ohne Verlust verschiedenen Korrekturversuchen unterworfen werden, bis das gewünschte Ergebnis erhalten wird.

Diese Methode der numerischen Entzerrung beruht auf folgendem Prinzip: Wenn man über das (lineare) Reizinterferogramm den Mittelwert bildet, so ist dieser gleich dem Wert des mittleren Reizniveaus. Anders ausgedrückt sind also die Flächen oberhalb und unterhalb der Reiz-Null-Linie identisch. Dies läßt sich verstehen, wenn man die Zusammensetzung des Interferogramms aus Einzel-Sinuskomponenten bedenkt. Alle diese Einzelkomponenten schwingen um das mittlere Intensitätsniveau, wobei sie cosinusförmig am Weißlichtpunkt beginnen. Für das auf den Mittelwert bezogene Interferogramm kann man folglich schreiben:

$$S = \sum_{i=1}^{\infty} a_i \cdot \cos(\omega_i t)$$

Die Fläche F unter dem Interferogramm ergibt sich daraus durch Integration:

$$F = \int_{-\infty}^{\infty} S = \int_{-\infty}^{\infty} \sum a_i \cdot \cos(\omega_i t) = \sum a_i \int_{-\infty}^{\infty} \cos(\omega_i t) = 0$$

Die Kurvenflächen unterhalb und oberhalb der Mittellinie des durch Superposition erzeugten Interferogramms sind also gleich groß und ergänzen sich zu Null.

Im nichtlinearen Fall (Ungültigkeit der Superposition) ist dies nicht der Fall, wie man auch anschaulich leicht am verzerrten Interferogramm erkennt. Wenn z. B. die System-Nichtlinearität durch eine logarithmische Kennlinie verursacht wird, werden Werte oberhalb bzw. unterhalb der Interferogramm-Null-Linie gestaucht bzw. gedehnt (siehe Abb. 4.4.3a). Deshalb sind auch die Flächen oberhalb und unterhalb der Null-Linie nicht mehr gleich. Eine Berechnung des Interferogramm-Mittelwertes führt damit zu einem Ergebnis, welches

(in Abhängigkeit von der Verzerrung) mit dem Wert der Interferogramm-Null-Linie nicht mehr übereinstimmt.

Die letzte Aussage enthält also ein Kriterium für die Güte der Entzerrung: Die Linearisierung ist genau dann erreicht, wenn der Mittelwert über dem Interferogramm-Datensatz mit dem (Mittel-) Wert der Randpunkte (die identisch mit der Reiz-Null-Linie sind) zusammenfällt.

Für die praktische Durchführung wurde deshalb ein Programm geschrieben, welches das logarithmische Interferogramm entzerzt. Iterativ wird dabei der Datensatz exponentiell verzerrt, die obige Linearitätsbedingung überprüft und bei negativem Ergebnis die Parameter der Entzerrungsfunktion gezielt variiert. Die Delogarithmisierung des Original-Datensatzes wird mit jeweils neuen Werten solange versucht, bis die Linearitätsbedingung erfüllt ist.

Diese Methode der Entzerrung führt zu einem gleich guten Ergebnis, wie es in Abb. 4.4.2 gezeigt wurde. Ein numerisch delogarithmisiertes Interferogramm ist in Abb. 4.4.3b dargestellt.

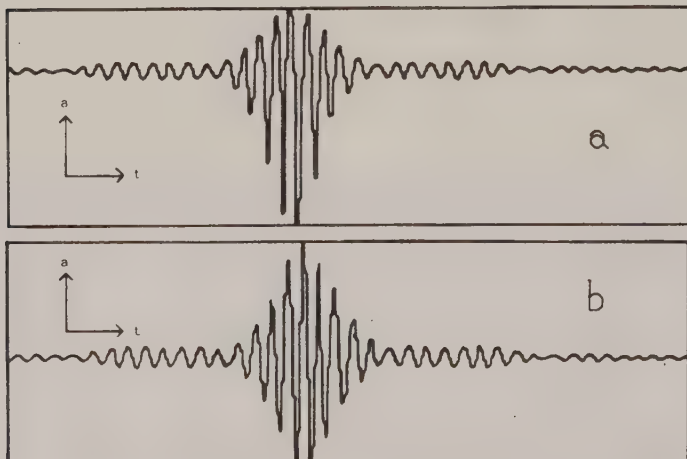


Abb. 4.4.3: Logarithmisches (a) und numerisch delogarithmisirtes (b) Antwort-Interferogramm des verzerrten Photoelement-Modellsystems;

a: Relative Amplitude ; t: Zeit ;

Eventuell ist (basierend auf dem hier vorgestellten Prinzip) ein erweitertes Programm denkbar, welches selbständig eine nicht zu pathologische Entzerrungsfunktion ermitteln könnte; dabei müßte der Algorithmus auf einer sukzessiven Approximation der Entzerrungsfunktion durch eine Potenzreihe beruhen.

Während die beiden bisher vorgestellten Methoden elektronisch bzw. numerisch aufwendig sind, läßt sich das folgende Verfahren einfacher realisieren:

Dabei wird in einer Vormessung mit einem Sinus-Einzelreiz die Reiz/Antwort-Beziehung des Untersuchungssystems für einen vom Modulationsgrad abhängigen Wertebereich um den Arbeitspunkt bestimmt. Diese "lokale Kennlinie" wird invertiert und dient für die nachfolgende FIS-Messung als Entzerrungsfunktion.

Für das Photoelement-Modellsystem zeigt dieses Verfahren ähnlich gute Resultate wie die beiden vorherigen Methoden, wenn der Modulationsgrad des Weißlicht-Einzelreizes größer oder ungefähr gleich dem der FIS-Messung ist.

Allen drei hier besprochenen Entzerrungsmethoden sind jedoch Grenzen gesetzt, wenn ein nachgeschaltetes elektrisches Filter die nichtlineare Systemantwort (verzerrtes Interferogramm bzw. verzerrter Einzelreiz) beeinflusst. Im allgemeinen erniedrigt eine Pass-Funktion den Informationsgehalt eines Signals¹⁾. Meist ist es damit nicht mehr möglich, Aussagen über die auf das Eingangssignal wirkende Verzerrung zu machen. Ein Beispiel soll dies erläutern:

Sowohl ein zum Dreieck als auch zum Rechteck verzerrter Sinusreiz liefert bei geeigneter Bandpassung im eingeschwungenen Zustand gleichfrequente sinusförmige Ausgangssignale. Das Bandfilter hat also die Information über die Art der Nichtlinearität (durch Herausfilterung des Oberwellengehaltes) vernichtet. Damit ist eine rückwirkende Bestimmung der verzerrenden Kennlinie aus dem gepass-

1) Eine Ausnahme bildet z. B. ein verrauschtes Signal. Wenn hier das Rauschen weggepasst werden kann, wird der Informationsgehalt höher.

ten Ausgangssignal nicht mehr möglich.

Zusammenfassend ist somit folgendes festzuhalten:

Prinzipiell gibt es verschiedene elektronische und numerische Methoden zur erfolgreichen Entzerrung einer nichtlinearen FIS-Antwort, solange die System-Reaktion die Information über die Art der Nichtlinearität enthält. Dies ist z. B. bei dem Photoelement-Modellsystem der Fall.

Wird die nichtlineare Antwort aber durch ein elektrisches Filter oder ein anderes dynamisches System weiter verzerrt, wird der Informationsgehalt des Ausgangssignals bezüglich der Nichtlinearität verringert. In diesem Fall ist die Entzerrung nicht mehr exakt durchführbar.

Eine "Linearisierung" durch ein elektrisches Filter, welches ein verzerrtes Signal von seinem Oberwellengehalt befreit, ist ebenfalls nicht möglich, da die Amplitudenverzerrung der linearen Antwort nicht weggepasst werden kann, ohne die lineare Antwort selbst zu beeinflussen.

Wie sich jedoch bei den in dieser Arbeit durchgeführten biologischen Untersuchungen gezeigt hat, ist dort im allgemeinen eine Entzerrung der FIS-Antwort überflüssig, weil diese in guter Näherung nur quadratische Komponenten enthält. In vielen Fällen wäre eine mögliche Entzerrung geradezu falsch, da damit in den Nichtlinearitäten vorhandene wichtige Informationen vernichtet würden (Beispiele siehe Abschnitt 6).

Aus diesen Gründen wird eine Entzerrung der biologischen FIS-Antworten im Normalfall nicht durchgeführt. Deshalb wurde in diesem Kapitel auf eine genauere und ausführlichere Beschreibung der elektronischen Schaltung und der numerischen Algorithmen, die zur Entzerrung verwendet wurden, verzichtet.

4.5 Phase und Nichtlinearität bei einer quadratisch verzerrten FIS-Messung

Wie im Kapitel 3.4 schon besprochen wurde, liefert die harmonische Analyse neben der Amplituden- noch eine Phaseninformation. Dabei ist einer gerade passend im Datensatz liegenden Cosinusfunktion der Frequenzkomponente f_i die Phase $q_i = 0$ zugeordnet.

Nach den Überlegungen von Kapitel 4.1 haben alle Reizfrequenzen des FIS-Spektrums im Weißlichtpunkt die gleiche Phasenlage $q_i = 0$. Diese Gleichphasigkeit wird aufgrund der Frequenzunterschiede der Reizkomponenten mit zunehmender Spiegelverschiebung im Interferometer immer weniger erfüllt; die Frequenzanteile laufen außer Phase.

Wie im Kapitel 4.2 erwähnt wurde, erfolgt die Datenerfassung ungefähr symmetrisch um die Weißlichtposition. Damit ist gewährleistet, daß die größte dynamische Antwort ermittelt wird. Andererseits bedeutet diese Erfassung jedoch, daß an einem Punkt gestartet wird, an dem die Reizfrequenzanteile gegeneinander phasenverschoben sind.

Bei zeitlich konstanter Spiegelverschiebung wird nach einer Erfassungszeit $t_{1/2}$, die ca. der Hälfte der Gesamtmeßzeit entspricht, die Weißlichtposition erreicht. Man kann deshalb die reale Datenerfassung formal als eine um $-t_{1/2}$ zeitverschobene Erfassung eines komplexen Sinusreizes auffassen, bei dem alle Reizkomponenten (wie bei FIS im Weißlichtpunkt) die Anfangsphasen $q_i = 0$ haben. Eine konstante Totzeit $t_{1/2}$ bedeutet aber nach den Aussagen von Kapitel 3.4 eine lineare Zunahme des Phasenwinkels mit der Frequenz. Das Vorzeichen der Phase ist dabei negativ; es wird gegenüber der zum Weißlichtpunkt gehörigen Zeit t_0 früher gemessen. Die Größe des Phasenunterschiedes zwischen benachbarten Frequenzen läßt sich durch folgende Überlegung abschätzen:

Wie im Kapitel 4.1 beschrieben, analysiert die FFT einen Datensatz nach ganzzahligen Schwingungen. Benachbarte Frequenzindices unterscheiden sich deshalb um eine Schwingung im Datenfenster. Deshalb wird genau eine Schwebungsperiode benachbarter Komponenten erfaßt. Am Ende des Datensatzes stehen ihre Phasen im gleichen Ver-

hältnis wie zu Beginn, wobei jedoch die Differenz der Phasenlagen während der Datenerfassung 360° durchlaufen hat. Berücksichtigt man noch eine symmetrische Erfassung um den Weißlichtpunkt, so beträgt also die Differenz benachbarter Phasen zum Start- bzw. Endpunkt des Datensatzes $dq_{i-(i\pm 1)} = 180^\circ$.

Aus programmtechnischen Gründen jedoch liegt die Weißlichtposition bei einer FIS-Messung normalerweise vor der Datensatzmitte. Wie schon im Kapitel 4.2 angesprochen wurde, werden nämlich in der Praxis nur kürzere Datensätze erfaßt, die künstlich mit dem Mittelwert auf die für die FFT benötigte Transformationsgröße einseitig verlängert werden. Damit verschiebt sich die Weißlichtposition näher zum Startpunkt der Datenerfassung. Als Folgerung davon wird die meßbare Differenz zwischen benachbarten Phasen kleiner als 180° sein.

In Abb. 4.5.1 sind Amplituden- und Phasenspektrum der (mit der Photomultiplier-Empfindlichkeit) bewerteten Reizlichtquelle aufgetragen. Die Spektren wurden mit FIS experimentell ermittelt. Die Abbildung zeigt das steile Durchlaufen der Phase und eine Phasendifferenz kleiner als 180° zwischen benachbarten Frequenzpunkten. Dabei ist zu beachten, daß die Phase nur modulo 360° Fourier-analytisch bestimmbar ist. Ein größerer Phasenwinkel als $\pm 360^\circ$ wird auf den Grundbereich abgebildet. Ein Überschreiten des Grenzwertes $k \cdot 2\pi$ bzw. $(k-1) \cdot 2\pi$ ($k \in \mathbb{Z}$) erzeugt deshalb einen scheinbaren Phasensprung um 2π . Dieser Phasensprung ist gestrichelt dargestellt.

Aus Abb. 4.5.1 ist weiterhin ersichtlich, daß auch außerhalb des Frequenzbereiches des Reizlichtspektrums Phasen errechnet werden, die in erster Näherung ebenfalls die linear mit der Frequenz zunehmende Phase zeigen. Diese Werte berechnen sich aus den geringen nichtlinearen Amplituden, die durch mehrere Effekte erzeugt werden:

- a) Ein Effekt ist die nichtlineare Verzerrung des erfaßten Antwortinterferogramms. Diese ist einmal bedingt durch Nichtlinearitäten im Photomultiplier und der Folgeelektronik, wie sich durch Variation der Verstärkerparameter und der Multiplier-Empfindlichkeit zeigen läßt.

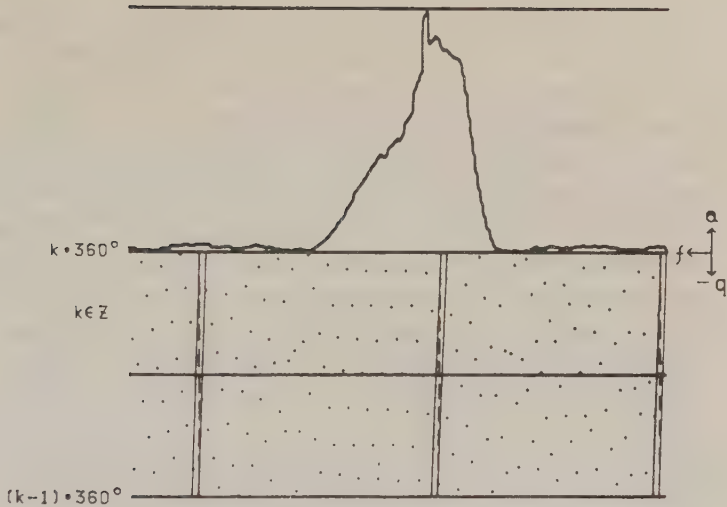


Abb. 4.5.1: Amplituden- und Phasenspektrum des FIS-Reizes;
Die Phase ist modulo 360° bestimmt;
Durchgezogene Linie im Phasenspektrum: Verbindung aufeinander
folgender Frequenzpunkte ;
Gestrichelte Linien: Phasensprung von 360°
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ; q: Phase ;

Zum anderen wirkt aber auch die Interferogramm-Wegregelung durch eine nicht völlig konstante Abtastrate verzerrend (siehe Paul, 1981). Die Summe dieser Verzerrungen beträgt im Normalfall maximal 5% im quadratischen Anteil; sie kann jedoch durch exakte Reglungs-Justage und Einstellung der Elektronik auf ca. 2% der größten linearen Antwort gedrückt werden¹⁾. Wie aus den Ergebnissen von Kapitel 3.4 ersichtlich, liefert eine quadratische Verzerrung nach einem linearen Phasengang zu einem Frequenzpunkt f_i diejenige Phase q_i , wie sie für eine lineare Spektralkomponente bei f_i durch den Phasengang selbst erzeugt würde. Da sich die quadratischen Nichtlinearitäten fast auf das ganze in Abb. 4.5.1 dargestellte Frequenzband erstrecken, zeigt des-

1) Diese Werte gelten ohne elektrische Frequenzbandfilterung

halb das Phasenspektrum bei grober Betrachtung des (durchgezogen dargestellten) Phasenganges ein Verhalten, als würden sich die Reizfrequenzen über alle möglichen Frequenzwerte verteilen.

Eine genaue Betrachtung ergibt jedoch, daß die Phasenpunkte außerhalb des linearen Lampenspektrums um ihre "Soll"-Lage mehr oder weniger stark streuen. Diese Streuung wird einmal durch höhere Nichtlinearitäten verursacht. Wie im Kapitel 3.4 erwähnt wurde, addieren sich frequenzmäßig zusammenfallende Mischanteile der quadratischen und höheren Verzerrungen vektoriell aufgrund ihrer unterschiedlichen Amplituden und Phasen. Die Summenphase weicht deshalb von dem Wert für eine quadratische Nichtlinearität ab.

- b) Ein weiterer Effekt, der Störamplituden erzeugt und ebenfalls zu einer Verschiebung der Phase (auch im linearen Antwortbereich) führen kann, ist das "Aliasing". Als "Aliasing" wird eine durch die digitale Datenerfassung verursachte Störung bezeichnet. Dabei werden höhere Frequenzen als die halbe Abtastrate ("Sampling"-Frequenz) in den unteren Frequenzbereich gespiegelt. Bei den hier durchgeführten Messungen beträgt die Sampling-Frequenz 36.8 Hz. Höhere Frequenzen als 18.4 Hz werden durch die digitale Datenerfassung somit auf den in Abb. 4.5.1 dargestellten Bereich von 0 bis 18.4 Hz abgebildet. Bei den normalen FIS-Messungen wird deshalb das Reiz- bzw. Antwortinterferogramm vor der Erfassung elektronisch bandgefiltert, um höhere Störfrequenzen (z. B. Brumm) auszublenden. Bei der Messung zu Abb. 4.5.1 wurde jedoch auf Pässe verzichtet. Deshalb können hier durch Aliasing höhere Frequenzanteile mit beliebiger Phase in das dargestellte Frequenzband gefaltet werden.
- c) Letztlich treten auch direkt im erfaßten Frequenzband Rauschanteile und Störfrequenzen (Lampen-Intensitätsschwankungen, Erschütterungen des optischen Aufbaus usw.) auf. Diese Störanteile haben ebenfalls beliebige Phasenlagen, die zur Phase eines Frequenzpunktes f_1 beitragen.

Aus den vorstehend genannten Effekten a) bis c) ist also der Frequenzverlauf in Abb. 4.5.1 verständlich:

Bei oberflächlicher Betrachtung scheint die Phase gleichmäßig durch das gesamte Spektrum zu laufen (durchgezogene Linie), obwohl das Amplitudenspektrum der Lampe nur auf ein schmales Frequenzband beschränkt ist. Andererseits verwundert es jedoch nicht, daß bei näherer Betrachtung (Einzelpunkte) in Bereichen außerhalb des Lampenspektrums doch stärkere Abweichungen vom linearen Phasengang auftreten.

In Abb. 4.5.2 ist ein quadratisch verzerrtes Antwort-Rohspektrum des Photoelement-Modellsystems dargestellt. Dieses Modell-System wurde mit dem in Abb. 4.5.1 gezeigten Reiz-Spektrum untersucht. Insbesondere haben also die Sinusreizkomponenten eine linear durchlaufende Phasenlage. Nach den in Kapitel 3.4 durchgeführten Überlegungen für konstanten oder linear abhängigen Phasengang müssen deshalb die nichtlinearen Antwortanteile folgende Phasenwerte aufweisen:

Die Subharmonischen zeigen ebenfalls den linearen Phasenverlauf der 1. Harmonischen. Dabei ist dem Frequenzindex f_0 die Phase $q_0 = 0$ zugeordnet. Die 2. Harmonischen und die ihnen entsprechenden Mischfrequenzen haben die doppelte Phasenlage der 1. Harmonischen. Die ungeraden, zwischen die 2. Harmonischen fallenden Mischfrequenzen, liegen auch phasenmäßig in der Mitte benachbarter Phasenpunkte.

Diese Ergebnisse werden durch das experimentelle Resultat befriedigend bestätigt, wie in Abb. 4.5.2 durch die gekennzeichneten Punkte und Phasendifferenzen dargestellt wird. Die eventuellen Abweichungen sind durch Störungen (siehe oben, Punkt a) bis c)) erklärbar und können im Rahmen der Meßgenauigkeit vernachlässigt werden.

Insgesamt jedoch ist die in Abb. 4.5.1 und 4.5.2 gewählte Darstellung des Phasenspektrums sehr unübersichtlich, und spektrale Abweichungen, Phasensprünge und Phasengang eines Untersuchungsobjektes lassen sich aus solchen Abbildungen nur schwer ermitteln. Um zu einem leichter deutbaren Ergebnis zu gelangen, muß deshalb mit dem nicht vom untersuchten Objekt stammenden, sondern metho-

disch bedingten Phasengang korrigiert werden.

Diese Korrektur ist einfach für die linearen Antwortkomponenten: Hier werden die durch den Phasengang des Untersuchungsobjektes erzeugten Phasen zu den Reizphasenlagen addiert. Die System-immanente Phasenverschiebung erhält man somit, wenn die Phasenwerte des Reizspektrums von den Werten der linearen Antwort subtrahiert werden.

Eine ähnliche Korrektur gilt für die Subharmonischen:

Jede subharmonische Komponente der Frequenz f_s wird um einen Phasenbeitrag $s \cdot dq$ verfälscht, wobei dq die Phasendifferenz benachbarter Reizkomponenten ist (siehe Kapitel 3.4). Die Differenz dq läßt sich (durch Mittelung zur höheren Genauigkeit) aus dem Phasenspektrum des Reizfrequenzganges bestimmen und kann dann nach Multiplikation mit dem Frequenzindex von den Phasen der subharmonischen Antwortkomponenten abgezogen werden.

Andererseits sollte es prinzipiell auch möglich sein, den durch FIS methodisch erzeugten linearen Phasengang aus dem Reizfrequenzspektrum zu niedrigeren Frequenzen hin so zu verlängern, daß bei der Frequenz f_0 (= DC-Anteil) die Phase durch Null läuft. Dies fordert die Beziehung zwischen konstanter (durch den Abstand Datenerfassungsanfang-Weißlichtposition gegebener) Totzeit und frequenzabhängiger Phase $q(\omega) = \omega t$. Im praktischen Versuch trifft jedoch die geradlinige Fortsetzung der linearen Antwortphase nicht den Ursprung des Phasen-Frequenzdiagramms. Dafür ist teilweise der steile Phasenverlauf verantwortlich; schon ein kleiner Fehler in der berechneten Steigung des Phasenganges im Reizspektralbereich führt zu einem spürbaren Ordinatenwert beim Frequenzindex f_0 . Es deuten aber Messungen mit dem stabilen Modellsystem darauf hin, daß alle Reiz- und Antwortkomponenten um eine konstante Zusatzphase q_c verschoben sind, und deshalb die Bedingung $q_0 = 0$ nicht erfüllt wird¹⁾. Für die experimentelle Anwendung spielt diese Zusatzphase keine Rolle; sie fällt bei der Phasensubtraktion von linearer Antwort und

1) Die Ursache dafür liegt eventuell in der Datenerfassung. Eine vollständige Aufklärung dieses Effektes steht aber noch aus.

Reiz heraus. Auch bei der Bildung von Subharmonischen durch Frequenzmischung von linearen Antwortkomponenten werden Phasen subtrahiert und deshalb eine Konstantphase q_c annulliert. Die subharmonischen Phasen müssen daher nur noch, wie oben beschrieben, mit dem frequenzabhängigen Subtrahenden $s \cdot dq$ korrigiert werden.

Etwas aufwendiger ist die Korrektur der Antwortphasen der 2. Harmonischen im Fall einer Konstantphase q_c . Für die Phasenlage q_i eines Frequenzpunktes f_i des linearen Antwortspektrums gilt die Bedingung:

$$q_i = (q_L + q_c) + q_{Si} \text{ , wobei } q_L + q_c \text{ die durch die FIS-Methode}$$

erzeugten Phasen (ein anwachsender und ein konstanter Anteil) sind. Die Summe dieser Komponenten ist aus dem (bei FIS gleichzeitig mit der Antwort erfaßten) Reizspektrum ablesbar. Die zusätzliche, durch das zu untersuchende System erzeugte Phase ist q_{Si} .

Für die Phasenlage q_{2i} eines Frequenzpunktes f_{2i} (2. Harmonische) gilt nach den Überlegungen von Kapitel 3.4:

$$q_{2i} = 2(q_c + q_L) + 2q_{Si}$$

Um also den System-immanenten Phasenanteil $2q_{Si}$ zu ermitteln, muß von der gemessenen Antwortphase q_{2i} der Anteil $2q_L + 2q_c$ subtrahiert werden. Dieser Korrekturanteil der 2. Harmonischen ist das Doppelte des aus dem Reizspektrum entnehmbaren Wertes für die 1. Harmonische.

Dieselbe Korrektur-Bedingung gilt auch für die frequenzmäßig geradzahligem Mischanteile, da sie mit den 2. Harmonischen phasenmäßig zusammenfallen.

Für die ungeradzahligem Mischanteile kommt man durch eine ähnliche Überlegung wie die vorangehende unter der Verwendung der Aussagen von Kapitel 3.4 zu folgendem Ergebnis:

Für ihre Phasenlagen q_{2i+1} gilt:

$$q_{2i+1} = 2(q_L + q_C) + dq + 2q_{Si} + dq_{Si}, \text{ wobei } dq \text{ bzw. } dq_{Si}$$

die Differenz benachbarter Phasenpunkte des Reizspektrums bzw. des Systemphasenganges bezeichnen¹⁾.

Damit ergibt sich für die Phasenkorrektur aller in den Bereich der 2. Harmonischen fallenden Spektralkomponenten folgende Verfahrensweise:

Das der linearen Antwort entsprechende Phasenspektrum im Frequenzintervall von f_u bis f_o wird auf das Frequenzintervall der 2. Harmonischen von f_{2u} bis f_{2o} durch Frequenz- und Phasenverdoppelung übertragen. Die fehlenden ungeradzahigen Frequenz-Zwischenwerte lassen sich dann durch lineare Interpolation bestimmen. Die so erhaltenen Phasenwerte werden sodann von den zugeordneten Phasen der nichtlinearen Antwort subtrahiert.

Ein nach den vorangehend beschriebenen Methoden mit dem Reizphasenspektrum (Abb. 4.5.1) korrigiertes quadratisch verzerrtes Antwortspektrum (Abb. 4.5.2) wird in Ab. 4.5.3 dargestellt. Im Gegensatz zu Abb. 4.5.2 zeigt das Phasenspektrum bei nicht zu kleiner Antwortamplitude nun nur noch die System-immanenten Effekte:

Die Phasenlage der Subharmonischen ist $q_s \approx 0$, bedingt durch eine annähernd konstante Phasenlage $q_i = q_C$ der linearen Antwortkomponenten f_i . Die Phasenwerte im Bereich der 2. Harmonischen betragen $q_{2i(+1)} \approx 2q_C$.

Obwohl sehr nützlich zur Überprüfung des Zusammenhanges zwischen 1. und 2. Harmonischen, ist an dem vorliegenden Ergebnis die Phasendifferenz q_C verwunderlich. Die Kette Modellsystem-Folgeelektronik enthält nämlich keine offensichtlichen frequenzabhängigen Komponenten (für den Reizfrequenzbereich). Bei den hier durchgeführten Experimenten gilt dies gleichermaßen für den Photomultiplier und die nachgeschaltete Verstärker-Kette.

Eine zeitunterschiedliche Erfassung des Reiz- und Antwort-Interferogrammes scheidet als Ursache ebenfalls aus, da in diesem Fall die Phase sich linear mit

1) Beispiel: Zu f_x gehört eine Phase $q_x = q_L + q_C = x \cdot dq + q_C$ ($q_{Si} = 0$).

Zu f_{41} trägt u. a. die Mischung von f_{19} und f_{22} bei. Für die Phase q_{41} folgt:

$$q_{41} = 19 \cdot dq + q_C + 22 \cdot dq + q_C = 2q_L + 2q_C + dq$$

der Frequenz ändern müßte. Zweitens ist die aus q_c berechenbare Verzögerung wesentlich größer als der Zeitunterschied, der durch die Programm-technisch bedingte "serielle" Datenerfassung gegeben ist. Diese Erfassungsdifferenz ist nicht merklich, wie sich durch eine Parallelerfassung des gleichen Datensatzes zeigen läßt: die daraus berechnete Phasendifferenz zwischen linearer Antwort und Reiz schwankt statistisch um die Null-Lage.

Die durch mehrere Experimente bestätigte Konstantphase q_c muß also in den unterschiedlichen Systemen zur Erfassung von Reiz- und Antwort-Interferogramm begründet sein. Auf eine Klärung dieses systematischen Meß-"Fehlers" wurde verzichtet, da er für spätere Messungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit ohne Bedeutung ist.

Die in Abb. 4.5.3 feststellbaren zusätzlichen Abweichungen und Streuungen der Datenpunkte sind in erster Linie auf die früher angesprochenen Effekte a) bis c) (höhere Nichtlinearitäten, Aliasing, Rauschen) zurückzuführen. Sie wirken sich besonders im Spektralbereich mit niedriger (Antwort-) Signalamplitude aus. Die damit verbundene Reduktion des Signal-Rausch-Verhältnisses verursacht eine höhere Varianz der Phasen-Werte.

Bisher wurde gezeigt, daß die Ergebnisse der theoretischen Überlegung, der Computer-Simulation und der praktischen Messung bezüglich der Phase im Rahmen der Meßgenauigkeit gut übereinstimmen.

Auch die nichtlineare Amplitudenantwort, die bei der Verzerrung an einer quadratischen Kennlinie auftritt, wurde schon im Kapitel 3.3 theoretisch und durch Computer-Simulation untersucht. Dort wurde u. a. beschrieben, wie sich quadratische Nichtlinearitäten bei konstanter oder linear abhängiger Reizphasenlage numerisch aus der linearen Antwort ermitteln lassen. Dieses Verfahren wurde auf das Fourier-analytisch gewonnene Amplitudenspektrum aus Abb. 4.5.3 angewandt; im Amplitudenspektrum ist das Ergebnis der numerischen Berechnung durch Punkte dargestellt. Sie stimmen befriedigend mit der durchgezogenen Linie überein.

Abweichungen können neben den früher erwähnten Punkten (s. o.) durch zwei weitere Ursachen erklärt werden.

Die erste Fehler-Möglichkeit wurde schon angesprochen:

Vor allem im Bereich der Subharmonischen sind reale Frequenzanteile zu erwarten, die z. B. durch eine langsame Drift elektrischer

und anderer Systemparameter (Änderung des Offset-Punktes, Variation in der Lampenintensität, Regelschwankungen usw.) erzeugt werden. Dieser Effekt klärt besonders die starke Abweichung bei den untersten Frequenzwerten.

Eine weitere Fehler-Möglichkeit ist durch die FFT-Berechnung gegeben. Wie im Kapitel 4.1 beschrieben wurde, ermittelt die FFT-Analyse Spektralkomponenten, die sich durch überlappende Filter im Frequenzkontinuum darstellen lassen. Im vorliegenden Fall wurden die Interferogramm-Daten ohne eine glättende Fensterfunktion transformiert, was zwar die numerische Auflösung erhöht, jedoch die Wechselwirkung vor allem zwischen weiter benachbarten Frequenzpunkten verstärkt¹⁾. Aufgrund dieser Wechselwirkung ist der Amplitudenwert eines Frequenz-Indexes immer von seiner Umgebung beeinflusst²⁾. Diese Beeinflussung macht sich dann besonders bemerkbar, wenn große Amplitudendifferenzen auftreten. Dies gilt besonders für die untersten Frequenzpunkte. Dabei ist zu berücksichtigen, daß der zum Frequenzindex 0 gehörige DC-Anteil digital aus dem Interferogramm gefiltert wird: Aus programmtechnischen Gründen wird vor der Fouriertransformation der Mittelwert des Interferogramm-Datensatzes gebildet und dieser als Offset abgezogen. Als Folge davon tritt bei den durch FIS bestimmten Spektren grundsätzlich kein DC-Anteil auf. Dies erklärt die starke Diskrepanz zwischen experimentell ermitteltem und numerisch berechnetem Gleichanteil.

Insgesamt jedoch ist die Übereinstimmung zwischen Berechnung und Experiment für die durch quadratische Verzerrung erzeugten Nicht-linearitäten befriedigend und zeigt die Stabilität und Güte der FIS-Methode.

1) Das Rechteckfenster hat eine $\frac{\sin x}{x}$ - Filterfunktion

2) Ein Hamming-Fenster glättet z. B. den Peak bei Frequenzindex 2 in Abb. 4.5.3

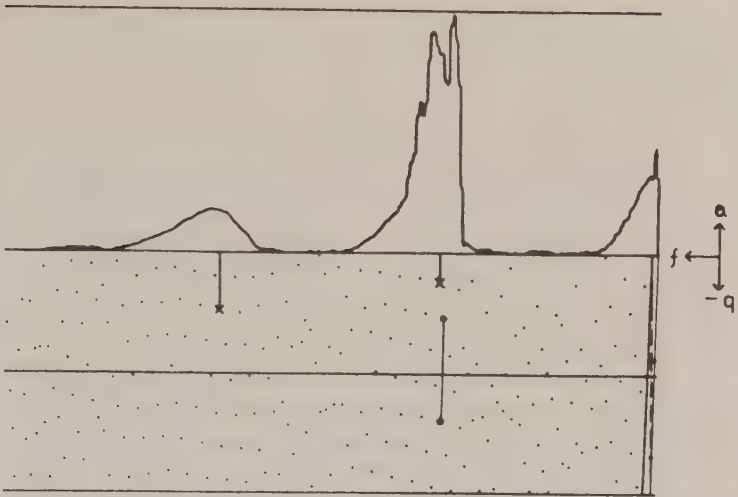


Abb. 4.5.2: Spektrale Amplituden- und Phasenantwort des Photoelement-Modellsystems; gestrichelt: Phasensprung von 360° ;
 ✕: Phasenlage einer Frequenz f und ihrer 2. Harmonischen $2f$;
 |•|: Phasendifferenz benachbarter Punkte im Reizspektrum;

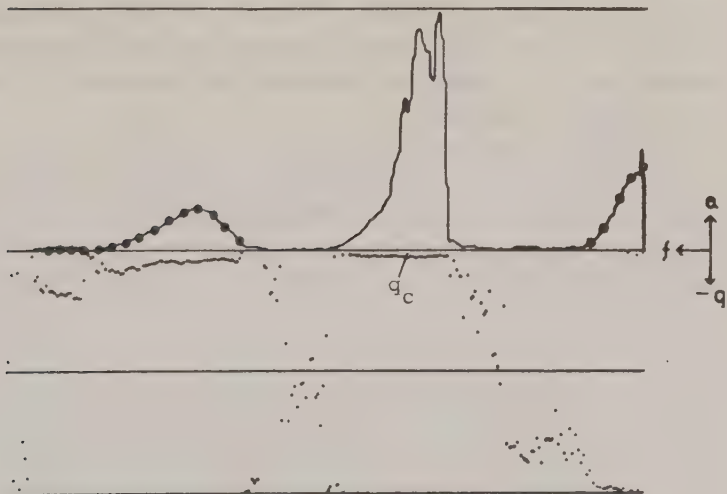


Abb. 4.5.3: Amplituden- und Phasenspektrum des quadratisch verzerrten Photoelement-Modells ; das Phasenspektrum ist mit der Reizlichtphase korrigiert; q_c : Konstantphase ;
 Punkte: Aus der linearen Antwort errechnete Nichtlinearität;

Zusammenfassend für dieses Kapitel soll deshalb folgendes festgehalten werden:

Die FIS-Methode verwendet einen komplexen Sinusreiz. Wird mit diesem ein quadratisch-nichtlineares System stimuliert, treten neben der linearen Amplituden- und Phasenantwort auch nichtlineare Antwortanteile auf. Sowohl nichtlineare Phasen als auch Amplituden stimmen im Rahmen der Meßgenauigkeit mit den Ergebnissen überein, die aufgrund der theoretischen Vorhersagen und der Computer-Simulation für ein stationäres Modellsystem mit quadratischer Kennlinie gefunden wurden.

Wenn daher Abweichungen der nichtlinearen Amplitude und der Phasenlage von den für das stationäre Einzelsystem gefundenen Resultaten auftreten, sind diese in System-Eigenschaften zu suchen. Zum Beispiel sollten sich Systemdynamiken in Phasenverschiebungen zwischen linearer und nichtlinearer Antwort ausdrücken. Die nichtlineare Antwort wird auch amplitudenmäßig beeinflusst sein, wenn sich das Untersuchungssystem aus mehreren spektralen Einzelkomponenten (mit eventuell unterschiedlichem Verzerrungsgrad) zusammensetzt. Solche Systeme sind z. B. bei der Summenableitung aus dem Retinabereich biologischer Objekte (ERG-Messung) gegeben.

Die Auswertung von Phase und Nichtlinearität bei biologischen Systemen wird im Abschnitt 6 durchgeführt werden. Es wird sich zeigen, daß nicht nur die aus der linearen Antwort ermittelten SE-Kurven, sondern auch die nichtlineare Antwort und der Phasen-Verlauf zur Systemanalyse dienen können.

4.6 Zusammenfassung: FIS-Untersuchung am Modellsystem

Die FIS-Methode ist ein neues, aktionsspektrometrisches Verfahren zur Bestimmung der SE von physikalischen und biologischen lichtempfindlichen Systemen. Der optische Aufbau von FIS erzeugt interferometrisch einen Reiz. Dieser wird durch ein (nicht-)lineares System in eine Interferogramm-ähnliche Antwort überführt. Aus Reiz- und Antwort-Interferogramm lassen sich durch numerische Fouriertransformation die Reiz- und Antwortspektren (Rohkurven) gewinnen. Eine weitere Verrechnung dieser beiden Funktionen führt beim linearen System zur SE-Kurve des untersuchten Objektes.

Um zu zeigen, daß sich System-Nichtlinearitäten bei FIS in gleicher Weise wie beim früher besprochenen komplexen Sinusreiz auswirken, erschien es mir sinnvoll, grundlegende Experimente nicht am biologischen Objekt, sondern an einem Modellsystem durchzuführen. Im Gegensatz zum biologischen Objekt hat das Modellsystem ein stabiles Zeitverhalten, eine definierte SE und eine umschaltbare nicht-lineare bzw. lineare Kennlinie. Gegenüber der numerischen Simulation hat seine Verwendung außerdem noch den Vorteil einer größeren Wirklichkeitsnähe zu späteren FIS-Messungen.

Die FIS-Untersuchungen am Modellsystem liefern folgende Ergebnisse:

Nicht nur im Fall einer linearen Kennlinie, sondern auch im Fall einer quadratischen Übertragungsfunktion ist die mit FIS ermittelte SE exakt, wenn sie spektral höchstens eine Oktave umfaßt. Genauso wie beim komplexen Sinusreiz und beim Sinuseinzelreiz treten Verzerrungen der linearen Antwort nur auf, wenn das System mindestens kubisch nichtlinear ist. Dann wird die mit FIS gewonnene SE-Kurve verfälscht.

Prinzipiell ist es möglich, stärker als quadratisch (z. B. logarithmisch) verzerrte FIS-Antworten zu analysieren, wenn man sie mit entsprechenden Funktionen entzerrt. Die Anwendbarkeit dieser Methoden bleibt jedoch beschränkt, wenn elektrische Filter nachgeschaltet oder System-Dynamiken vorhanden sind.

Aus dem mit FIS ermittelten Antwort-Interferogramm können neben der SE zwei weitere Informationsträger gewonnen werden. Dies ist erstens der Phasenverlauf, der von der Frequenz- und Farb-Spektralreaktion und von der Nichtlinearität des zu untersuchenden Systems abhängt. Zweitens kann auch die nichtlineare Antwort systemanalytisch nützlich sein, wenn z. B. ein spektral abhängiger Verzerrungsgrad im linearen Antwortbereich vorliegt. Ist die spektral abhängige Verzerrung durch unterschiedliche Einzelsysteme bedingt, so können diese aufgrund der Abweichungen zwischen numerisch berechneter und experimentell ermittelter nichtlinearer Antwort aufgelöst werden.

Mit diesem Kapitel werden die methodischen Überlegungen größtenteils abgeschlossen. Im folgenden Teil der vorliegenden Arbeit werden die am Modellsystem gewonnenen Ergebnisse und Untersuchungsmethoden auf biologische Objekte übertragen. Sie führen dort zu neuen Erkenntnissen, die den bisherigen methodischen Aufwand rechtfertigen werden.

5. Einzelsinusreiz an biologischen Objekten

5.0 Einführung

Im vorangegangenen Teil dieser Arbeit wurden die Auswirkungen von Einzel-Sinusreiz, komplexem Weißlicht-Sinusreiz und komplexem spektralcodierten Sinusreiz (FIS) auf nichtlineare Systeme untersucht. Dabei wurde experimentell auf Computersimulationen oder Untersuchungen am Modellsystem "Photoelement" zurückgegriffen.

In den letzten 2 Abschnitten dieser Arbeit soll nun dargestellt werden, inwieweit die bisherigen Untersuchungsmethoden und Ergebnisse sich auf biologische Objekte übertragen lassen und wie Abweichungen gedeutet werden können.

Dabei wird sich zeigen, daß schon die Untersuchung mit Einzel-Sinusreizen interessante Ergebnisse bringt. Bei einem Vergleich mit anderen Autoren, die sich ebenfalls mit der Dynamik von Sehsystemen beschäftigt haben, wird sich ergeben, daß sich deren Resultate gut in die hier gewonnenen Ergebnisse einfügen.

Abschließend wird versucht, einen Modell-Ansatz für das biologische Sehsystem zu finden, der die gemessenen Effekte klären könnte. Bevor die Resultate der Einzelsinus-Reizung vorgestellt werden, wird im nächsten Kapitel zunächst auf die biologischen Untersuchungsobjekte und die elektrophysiologische Ableittechnik eingegangen. Hinsichtlich der Reiz-erzeugenden Apparatur und Meßparameter sei auf Kapitel 4.2 verwiesen.

5.1 Biologisches Material, Ableitmethode und Versuchsparameter

Als biologische Untersuchungsobjekte wurden Vertreter der Insekten-Klasse verwendet.

Das ursprüngliche Ziel dieser Arbeit war die FIS-Untersuchung von Schmetterlingsarten, die im Rahmen anderer Forschungsvorhaben im Zoologischen Institut (Verhaltensforschung, histologische Untersuchungen) im Hause (Abteilung Kolb) gezüchtet werden. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb folgende Schmetterlingsarten untersucht¹⁾:

- a) Kohlweißling (*Pieris brassicae*, Pieridae)
- b) Waldbrettspiel (*Pararge aegeria*, Satyridae)
- c) Kleiner Fuchs (*Aglais urticae*, Nymphalidae)

Diese Tagfalter sollen im nachfolgenden kurz vorgestellt werden. Die Angaben wurden einschlägiger Bestimmungsliteratur (z. B. Garms, 1982 und Sauer, 1982) entnommen.

Der Kohlweißling ist von Frühjahr bis Herbst aktiv. Die Raupe ist von wirtschaftlicher Bedeutung, sie richtet im Gemüseanbau oft große Fraß-Schäden an.

Das Waldbrettspiel hat seinen Namen aufgrund eines fleckartigen Musters auf den braunen Vorderflügeln und wegen seiner Lebensweise erhalten; er fliegt hauptsächlich auf Wald-Lichtungen und -Wegen.

Der kleine Fuchs überdauert den Winter als Falter in Dachböden und Höhlen. Er ist rotbraun gefärbt und hat am Flügel-Vorderrand drei schwarze Flecken und an den Flügelrändern einen schwarzen Saum mit blauen Flecken.

Sowohl der kleine Fuchs als auch das Waldbrettspiel zeichnen sich durch eine Besonderheit aus, die auch zur Einordnung in die gleiche Familie (Nymphalidae) durch frühere Autoren (z. B. Lampert, 1907) führte: Beide Schmetterlinge verwenden das vorderste Beinpaar

1) Die Schmetterlinge wurden mir freundlicherweise von Frau Prof. Dr. Kolb zur Verfügung gestellt.

nicht zum Laufen, sondern zum Putzen. Eine weitere Gemeinsamkeit ist auch in ihrer Spektralreaktion feststellbar. Es wird sich später zeigen, daß auch die SE dieser Arten ziemlich ähnlich ist. Der Kohlweißling dagegen hat eine andere SE.

Bei der elektrophysiologischen Untersuchung der Schmetterlinge sollte ursprünglich intrazellulär aus den Sehzellen der Retina abgeleitet werden. Dies ist jedoch bisher nicht gelungen. Um dennoch das für einige Experimente benötigte "Einzelssystem" zu erhalten, wurden deshalb intrazelluläre Ableitungen an einem weiteren Untersuchungsobjekt, der blauen Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala* Wildtyp und ihrer Mutante "Chalky"¹⁾ vorgenommen. Bei dieser Art war die intrazelluläre Ableitung aus Sehzellen problemlos gewährleistet.

Die elektrophysiologische Untersuchung der Schmeißfliege hat auch im Zoologischen Institut der Universität München große Tradition. Deshalb existiert eine umfangreiche Zucht, der alle Versuchstiere entnommen wurden.

Bei allen Versuchstieren wurde ursprünglich von der z. B. bei /Meffert, 1977/ beschriebenen Präparationsmethode ausgegangen. Dabei wird das Tier dekapitiert und der Kopf geeignet gehaltert. Die Ableitelektrode wird vom hinteren Augenrand in die Retina eingeführt.

Bei den Schmetterlingen jedoch erwies sich diese Ableitart als wenig erfolgreich. Meist konnte kein oder nur ein geringes, schnell kleiner werdendes Sehpotential aus dem Kopf allein abgeleitet werden. Deshalb wurde bei Schmetterlingen prinzipiell die bei /Paul, 1981/ beschriebene Ganzkörper-Präparation verwendet. Der Vorteil dieser Präparationsart ist die große Stabilität des Untersuchungssystems. Extrazelluläre Messungen über Stunden (bis Tage) sind möglich.

Diese Präparationsart wurde auch für die Fliegen-Messungen ange-

1) Die Mutante "Chalky" besitzt Schirmpigment-freie Augen (Hoffmann, Langer, 1961)

wendet. Der Nachteil des geringfügig erhöhten Rauschens gegenüber der "Kopf"-Präparation ist bei weitem nicht vergleichbar mit dem Vorteil der längeren Stabilität, der auch für intrazelluläre Ableitungen gültig ist.

Der Einstich der Elektrode bei der Fliege erfolgt im Normalfall auch bei der Ganzkörper-Präparation vom hinteren Augenrand her. Beim Schmetterling erwies es sich jedoch als günstiger, die Ableit-Elektrode von vorne in das Auge einzuführen. Die Gründe dafür sind durch den anatomischen Aufbau gegeben, der von /Kolb, 1977/ für das Komplexauge des Kohlweißlings untersucht wurde (siehe auch Abb. 6.6.1). Danach sind die einzelnen Ommatidien an ihrer Basis von einem Tracheen-Korb eingeschlossen. Diese tracheale Struktur ist mit den verwendeten Ableit-Elektroden nur schwer zu penetrieren.

Deshalb war es einfacher, ein Stück der Cornea zu entfernen und durch das entstehende Loch von der Augenoberfläche her in die Retina-Schicht einzudringen. Auch bei dieser Ableitart ist es aber nicht gelungen, einzelne Sehzellen mit den Elektroden anzustechen.

In diesem Zusammenhang soll noch auf eine weitere Beobachtung hingewiesen werden, die bei den Präparationen der Waldbrettspiele gewonnen wurde:

Das Auge des Waldbrettspiels erscheint im Normalfall grün/silbrig-grau glänzend im Binokular. Es traten jedoch in letzter Zeit in der Zucht immer häufiger Exemplare mit rostbraunen, matten Augen auf. Bei der Präparation konnte mehrmals ein solcher Farbumschlag im Sekundenbereich beobachtet werden, manchmal auch, wenn noch nicht am Auge sondern erst am Körper manipuliert wurde.

All diesen braunäugigen Schmetterlingen war gemeinsam, daß sie ein erloschenes oder stark reduziertes ERG zeigten, welches nicht ausgewertet werden konnte.

Die Ursache für diesen Übergang von grünen zu braunen Augen, der oft nur einseitig stattfand, könnte eventuell ein Verletzungstrauma sein. Da die Häufigkeit des Auftretens solcher "Mutanten" mit der Zeit zunahm, ist auch ein Mangel in der Ernährung oder Haltung als Grundlage für die leichte Verletzbarkeit denkbar. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit war es jedoch nicht möglich, diesen interessan-

ten Sachverhalt näher zu untersuchen.

Als Elektroden für die elektrophysiologische Ableitung wurden normalerweise Glasmikropipetten verwendet, die mit einem Kapillarsziehgerät spitz gezogen und danach mit 3-molarer KCL gefüllt wurden.

Die gefüllten Elektroden zeigten einen Widerstand von 10 - 20 M Ω gemessen mit dem Ableitverstärker¹⁾ durch eine Gleichstrom-Einprägung. Die Elektroden Spitze taucht dazu in eine 3-molare KCL-Lösung, die elektrisch mit dem indifferenten Pol des Ableit-Verstärkers verbunden ist. Der Widerstand der Elektrode war ausreichend, um die intrazelluläre Ableitung aus dem Fliegenauge bis zu mehreren Stunden zu gewährleisten. Eine eindeutige Korrelation zwischen Elektroden-Widerstand und maximal möglicher Ableitdauer war dabei nicht festzustellen, solange der Elektroden-Widerstand nicht wesentlich unter 10 M Ω fiel. Im Tier selbst betrug der Elektroden-Widerstand in der Regel zwischen 30 und 100 M Ω .

Die Elektroden wurden durch eine Elektrodenhalterung mit einem Verstärkerkopf des Ableitverstärkers verschraubt. Dieser Verstärkerkopf ist auf einer Halterung befestigt, die bezüglich des abzuleitenden Tieres in Neigung, Höhe, seitlicher Ausrichtung und Abstand von Hand justiert werden kann. Die eigentliche Elektroden-Bewegung während des Einstiches erfolgte über einen Inchworm²⁾ (gekoppelter elektromechanischer und piezokeramischer Linear-Vortrieb) mit Kontrollelektronik. Diese Kontrollelektronik liefert alle 1.2 μ m ein Signal, welches zur Kontrolle des zurückgelegten Weges dienen kann. Deshalb wurde eine Remote-Kontroll-Einrichtung entwickelt, die (neben der Steuerung von Bewegungsrichtung und Geschwindigkeit) den Vortriebsweg von einem wählbaren Startpunkt an absolut mißt. Als Startpunkt wurde im Normalfall der leicht elektrisch registrierbare Kontakt mit der Augenoberfläche gewählt. Bei Berücksichtigung des Einstichwinkels (durch optische Kontrolle im Binoku-

1) Hersteller: Fa. Meyer und Jens; keine Typenbezeichnung

2) Hersteller: Burleigh Instruments, Inc.

lar) und der Augenform konnte deshalb in Näherung jeweils die Tiefe des Ableitortes festgestellt werden.

Die Anordnung Tier/Verstärkerkopf selbst ist wiederum schwenkbar zum Reizlicht-Einfall angeordnet¹⁾.

Wie im Kapitel 4.2 schon angesprochen, wird das Reizlicht über einen Lichtleiter dem Untersuchungsobjekt zugeführt. Vor dem biologischen Objekt ist noch eine Quarz-Sammellinse, ein Quarzplättchen zur Reizlichtausblendung und ein elektromechanischer Verschuß zur Rechteckreizung angeordnet.

Die maximale auf das Auge treffende Beleuchtungsstärke beträgt ca. 10 000 Lux²⁾, gemessen mit einem kommerziellen Optometer und einem Linsenbild von ca. 2 mm² auf der Augenoberfläche. Dies entspricht einer Beleuchtungsstärke, wie sie an einem Mitsommertag bei bedecktem Himmel auftritt (Elektor, 1983; Fricke, 1977).

Es ist aber zu beachten, daß dies nur eine grobe Schätzung der tatsächlichen maximalen Beleuchtungsstärke $Q_{\max}$ ist, die bei Experimenten auf das zu untersuchende Auge fällt. Aus apparativen Gründen ist es nicht immer möglich, das Licht maximal auf das biologische Objekt zu bündeln. Die vorausgehend gemachten Angaben sind deshalb als obere Abschätzung aufzufassen.

Der vollständige Aufbau der Ableitapparatur wird durch einen Faraday-Käfig gegen elektrostatische und niederfrequente elektrodynamische Störungen abgeschirmt.

Der Netzbrumm konnte durch geeignete Verkabelung ebenfalls so weit unterdrückt werden, daß auf eine im Ableit-Verstärker vorgesehene 50 Hz-Bandsperre verzichtet werden kann. Somit sind auch gänzlich passlose Messungen möglich, wie sie für spezielle Fragestellungen bei FIS-Experimenten durchgeführt wurden.

Auch für die in den nächsten Kapiteln besprochenen Experimente

-
- 1) Der mechanische Aufbau der Ableitapparatur wurde von R. Gemperlein entwickelt und von der Werkstatt des Hauses realisiert.
 - 2) Radiometrisch wurde mit einem glatten Durchlaßfilter zwischen 400 und 800 nm eine Beleuchtungsstärke von 20 mW/cm² gemessen.

mit Einzelsinus-Reizen wurde auf eine elektronische Signalfilterung verzichtet.

Abschließend zu diesem Kapitel sei noch ein weiteres biologisches Untersuchungsobjekt erwähnt, dessen Ergebnisse nur unter dem Aspekt der FIS-Nichtlinearitäten im Rahmen der vorliegenden Arbeit behandelt werden. Dieses Versuchsobjekt ist der Mensch. Auf eine Beschreibung der Versuchsbedingungen wird hier jedoch verzichtet, da diese z. B. bei /Adamczyk et al., 1983/ dargestellt werden. Die Human-Experimente fanden mit freundlicher Unterstützung von Dr. R. Adamczyk, Universitäts-Augenklinik, München, statt.

Als Abkürzungen für die Versuchstiere werden im nachfolgenden verwendet:

P.b.: Kohlweißling

P.a.: Waldbrettspiel

A.u.: kleiner Fuchs

C.e.: blaue Schmeißfliege

C.e.C.: blaue Schmeißfliege, Mutante "Chalky"

5.2 Die Kennlinien der untersuchten biologischen Objekte

Wird ein biologisches Sehsystem von verschiedenen Mengen wirksamer Lichtquanten Q getroffen, so wird bei einer elektrophysiologischen Ableitung eine elektrische Antwort A gemessen. Der Zusammenhang zwischen A und Q läßt sich durch die Kennlinienfunktion (Intensitätskennlinie) beschreiben. Ihre Kenntnis ist z. B. nötig, um nach der herkömmlichen Rechteckreizmethode die SE-Kurve der biologischen Objekte zu bestimmen (vergl. Autrum, v. Zwehl, 1964; Meffert, 1977).

Wie in den vorangegangenen Abschnitten gezeigt werden konnte, ist die Art der Übertragungsfunktion auch für modulierte Reizformen von entscheidender Bedeutung. Deshalb werden in diesem Kapitel die Kennlinien der Versuchstiere näher betrachtet. Zur Aufzeichnung der Intensitätskennlinie werden (von einem bestimmten Adaptationszustand ausgehend) mittels unterschiedlich starker Rechteckreize die Antworten des zu untersuchenden Systems ermittelt (siehe auch Kapitel 2.1). Bei biologischen Objekten treten dabei Adaptationseffekte auf, d. h. die Antwort wird in komplexer Weise von der Reizstärke, der Reizdauer und der Reizvorgeschichte beeinflusst¹⁾. Auch wenn sich der Photorezeptor in einem quasi-stationären Zustand befindet (z. B. dunkeladaptiert), ist es im allgemeinen schwierig, eine eindeutige Potentialantwort auf Rechteckreize unterschiedlicher Stärke festzulegen. Dies zeigen z. B. die bei Zettler, Järvilehto, 1970/ dargestellten Rechteckantworten der Schmeißfliege; die Antwortform ändert sich stark in Abhängigkeit der Reizintensität.

Der zeitliche Verlauf der Antwort in Abhängigkeit der Reizdauer wird in Abb. 5.2.1 bzw. 5.2.2 illustriert. Abb. 5.2.1 zeigt die intrazellulär bestimmte Rechteckantwort für C.e., in Abb. 5.2.2 ist die extrazellulär gemessene Antwort des Schmetterlings P.b. aufgetragen²⁾. Beide Tiere wurden mit einer mittleren Intensität gereizt.

1) Auch eine hier nicht betrachtete Antwortabhängigkeit vom Ableitort ist feststellbar.

2) C.e.C und P.a. bzw. A.u. zeigen jeweils ähnliche Ergebnisse.

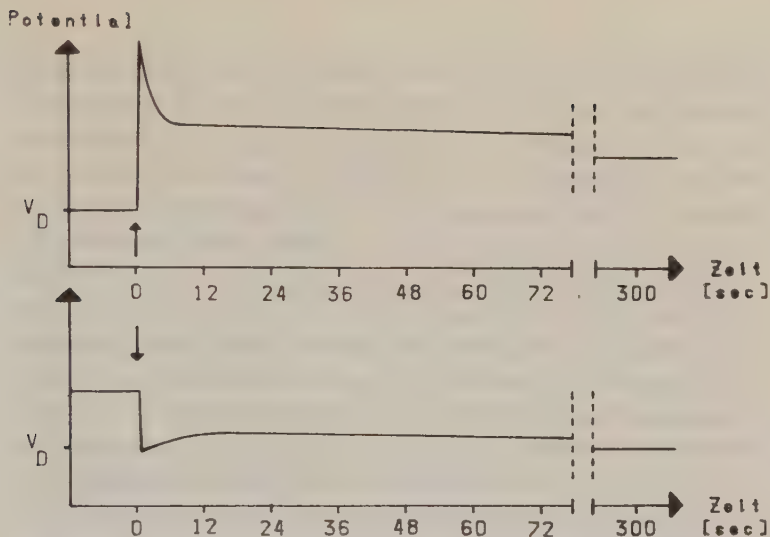


Abb. 5.2.1: Zeitlicher Verlauf des Antwortpotentials auf einen Lichtreiz von *Calliphora erythrocephala* bei intrazellulärer Ableitung;
 ↑: Licht an ; ↓: Licht aus ; V_D : Dunkelanteil (Ruhepotential)

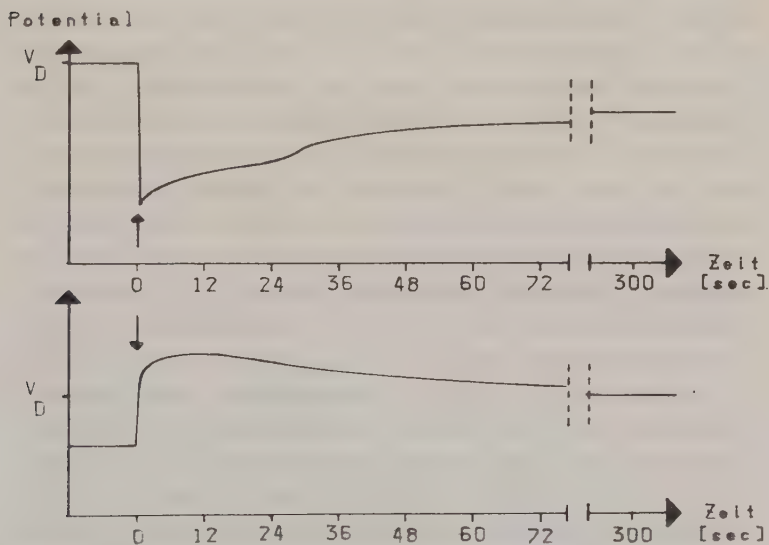


Abb. 5.2.2: Zeitlicher Verlauf des Antwortpotentials auf einen Lichtreiz von *Pieris brassicae* bei extrazellulärer Ableitung;
 ↑: Licht an ; ↓: Licht aus ; V_D : Dunkelanteil (Ruhepotential)

Diese Abbildungen lassen erkennen, daß in beiden Untersuchungsobjekten die absolute Antworthöhe nach Belichtung im Verlauf einiger Sekunden bzw. Minuten auf ca. die Hälfte abnimmt. Die Abnahme ist dabei zu Anfang stark und nähert sich dann asymptotisch dem Endwert. Nach Abschaltung des Lichtreizes benötigt das Untersuchungssystem wiederum etwas Zeit, um seinen potentialmäßigen Ausgangswert zu erreichen.

In Abb. 5.2.2 ist weiterhin erkennbar, daß der Potentialverlauf nach Belichtung nicht stetig veränderlich abnimmt. Dies deutet auf das Zusammenwirken verschiedener Adaptationsphänomene (z. B. Pigmentwanderung, Membran-Adaptation, Einstellung eines biochemischen Reaktionsgleichgewichtes) mit unterschiedlichen Zeitkonstanten hin.

Verursacht durch den zeitlichen Potential-Verlauf erhält man je nach Meßzeitpunkt verschiedene Rechteckreiz-Intensitätskennlinien (siehe z. B. /Gemperlein, Smola, 1972a/).

Die in dieser Arbeit gemessenen Rechteckkennlinien beziehen sich auf die Antworthöhe, die ca. 500 ms nach Reizbeginn bestimmt wurde ("Plateau-Wert"). Zwischen den einzelnen Meßpunkten wurde ausreichend lange dunkeladaptiert, damit sich das Ausgangs-Potential wieder einstellen konnte.

Wie schon oben angedeutet wurde, ist die Bestimmung der Rechteck-Intensitäts-Kennlinie eine gängige Untersuchungsmethode, bei der die Reaktion des Tieres (ausgehend vom meist dunkeladaptierten Zustand) auf einen Lichtblitz gemessen wird. Die dabei erhaltenen Intensitäts-Kennlinien sind in halblogarithmischer Auftragung (A über $\log Q$) sigmoid mit einem linearen Anfangsbereich, einem logarithmischen mittleren Bereich und einem Endbereich, in dem die Antwort A sich einem Sättigungswert nähert (Abbildungen hierzu siehe später in diesem Kapitel).

Legt man diese Kennlinie auch der modulierten Reiz-Übertragung zugrunde und betrachtet den Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort im mittleren Intensitätsbereich, so ist nach den früheren Aussagen eine starke Verzerrung der modulierten Reize zu erwarten, die zu fehlerhaften Ergebnissen führt (vergleiche z. B. Abb. 4.3.7; FIS-Bestimmung der SE bei log-Kennlinie). Um diese Fehler zu vermeiden,

müßte (bei Inkaufnahme einer Verschlechterung des Signal/Rausch-Verhältnisses) der Modulationsgrad auf den Fall einer quadratischen Kennlinie beschränkt werden (klassische Linearisierung). Eine zweite, für das Signal/Rausch-Verhältnis ebenfalls ungünstige Möglichkeit wäre eine Verschiebung des Arbeitspunktes in den linearen Kennlinienbereich durch Erniedrigung des mittleren Intensitätsniveaus. Solche Messungen werden z. B. in /Paul, Steiner, Gemperlein, 1984/ dargestellt. Diese Intensitäts-abhängigen FIS-Messungen zeigen die erwartete Abnahme der Nichtlinearitäten mit kleiner werdender Intensität. Wider Erwarten sind jedoch keine stärkeren Veränderungen der SE-Kurven feststellbar, wie sie beim Übergang vom logarithmischen in den linearen Kennlinienbereich auftreten müßten (vergleiche Messungen am Modellsystem; Kapitel 4.3).

Wenn die mit Rechteckreizen (vom dunkeladaptierten Systemzustand ausgehend) bestimmte Übertragungsfunktion für modulierte Reize um ein mittleres Intensitätsniveau relevant wäre, müßte sich ein weiterer Effekt zeigen: Da die Steigung der Rechteck-Kennlinie bei hohen Intensitäten gegen Null geht, sollte die Modulationsantwort in gleichem Maße abnehmen. Aber auch dieser Sachverhalt ist in der Meßpraxis nicht feststellbar. Aus vorangehend genannten Gründen läßt sich schon schließen, daß die Rechteck-Kennlinie für die in der vorliegenden Arbeit angewendeten Modulationsreize als Übertragungsfunktion keine Gültigkeit hat.

Diese Tatsache überrascht nicht, wenn man die unterschiedlichen Reizformen berücksichtigt: Bei Rechteckreizung treffen Licht-"Blitze" verschiedener Stärke auf das jeweils dunkeladaptierte Tier; bei der Modulationsreizung wird sinusförmig um ein konstantes mittleres Reizlichtniveau stimuliert. Dieses Reizlichtniveau bestimmt gleichzeitig den Adaptationszustand des Sehsystems; er ist also jeweils von Intensitäts- zu Intensitätsstufe unterschiedlich.

Vergleicht man diese Reizformen mit den natürlichen Umwelt-Bedingungen eines Sehsystems, so ist leicht einsichtig, daß dem natürlichen Umweltreiz wesentlich stärker der modulierte Reiz auf einem mittleren Adaptationsniveau entspricht als der Rechteckreiz nach Dunkeladaptation. Wird als Modulationsstimulus noch ein kom-

plexer Sinusreiz verwendet, so ähnelt dieser in guter Näherung dem Lichtreiz, den z. B. ein fliegendes Insekt wahrnimmt: Die unterschiedlichen Strukturen der Umgebung erzeugen durch die Scheinbewegung im Auge ebenfalls einen komplexen Reiz um ein mittleres Intensitätsniveau. Wegen dieser Ähnlichkeit werden im weiteren der modulierte Reiz um einen Mittelwert als physiologischer Reiz und die dafür gültige Übertragungsfunktion als physiologische Kennlinie bezeichnet.

Die Bestimmung der physiologischen Kennlinie ist nach den herkömmlichen Methoden nicht möglich. Sie kann jedoch nach dem in Kapitel 2.3 dargestellten Verfahren über die Modulationskennlinie erfolgen¹⁾. Dazu wird zuerst die Intensitätsabhängigkeit der Antwortgröße auf modulierte Reize gemessen (Modulationskennlinie) und sodann dieses Ergebnis in halblogarithmischer Auftragung integriert. Der dabei unbekannte Skalierungsfaktor läßt sich durch folgende Überlegung abschätzen: Im Fall eines stationären Systems stimmt das Integral der Modulationskennlinie mit der Rechteck-Kennlinie überein, wie durch Rechnung und Modell-Messungen in Kapitel 2.3 gezeigt wurde. Im Fall des dynamischen Sehsystems der biologischen Objekte ist die Plateau-Antwort im helladaptierten Zustand ungefähr halb so groß wie nach der Dunkeladaptation; dies zeigen die Abbildungen 5.2.1 und 5.2.2. Auch eine maximale Modulation (erzeugt durch repetitierende Betätigung des Verschlusses) führt nach einer Helladaptation nur zu einer Potentialänderung, die ca. der Hälfte der Rechteckantwort des dunkeladaptierten Tieres entspricht. Aus diesen Gründen wird das Maximum der physiologischen Kennlinie auf 50% des Maximalwertes unter Rechteckreizung skaliert²⁾.

Bei der Bestimmung der Modulationskennlinie wurde der Modulationsgrad jeweils so gewählt, daß die 3. und höheren Harmonischen

-
- 1) Nach meiner Kenntnis wird dieses Verfahren hier erstmalig angewendet.
 - 2) Die Richtigkeit dieser Überlegung wird später experimentell bestätigt; siehe dazu Abb. 5.2.7.

(und damit eine Verzerrung der Grundschiwingung) für alle Intensitätsstufen vernachlässigt werden konnten. Dies wurde durch die Fourier-Analyse der sinusförmigen Antworten überprüft.

Die Modulationsfrequenz betrug 7 Hz; diese Frequenz wurde gewählt, weil sie ungefähr der Mitte des FIS-Reizfrequenzbandes entspricht.

In Abb. 5.2.3 bis 5.2.6 sind jeweils die Modulationskennlinien für die Schmetterlinge P.a. und P.b. und für die Fliegen C.e. und C.e.C. dargestellt. Auffällig ist, daß bei P.a. die Antwortgröße bei konstantem Modulationsgrad kontinuierlich mit der mittleren Intensität anwächst, während sie im Extremfall bei C.e.C. ein Maximum durchläuft. Man könnte vermuten, daß dieser Effekt durch die unterschiedlichen Ableitbedingungen verursacht wird: Wie schon angesprochen, wird bei der Fliege intrazellulär und bei den Schmetterlingen extrazellulär gemessen.

Gegen diese Vermutung sprechen jedoch mindestens drei Fakten:

Zum einen zeigen auch extrazelluläre Fliegenableitungen ein übereinstimmendes Bild mit intrazellulären Messungen hinsichtlich der Modulationskennlinie. Ein durch den unterschiedlichen Ableitort gegebener Einfluß auf modulierte Reize ist nicht feststellbar, wenn man von der prinzipiellen Änderung der Signalgröße an verschiedenen Ableitorten absieht.

Zum zweiten deutet sich auch in der extrazellulären Messung in Abb. 5.2.4 von P.b. ein beginnendes Abknicken der Modulationskennlinie an, und drittens ähnelt die intrazelluläre Messung von C.e. (Abb. 5.2.5) eher der Kennlinie von P.b. (Abb. 5.2.4) als von C.e.C.

Die Unterschiede in den Modulationskennlinien sind möglicherweise zu erklären, wenn man die unterschiedliche Antworthöhe auf Rechteckreizung berücksichtigt. Die Abb. 5.2.3 bis 5.2.6 sind in aufsteigender Größe der maximalen Rechteckantwort angeordnet. Aus dieser Anordnung erkennt man, daß Abknick-"Zeit"-Punkt und Antworthöhe miteinander korreliert sind. Die unterschiedlichen Modulationskennlinien der verschiedenen Untersuchungsobjekte können somit dadurch gedeutet werden, daß den auf das Maximum normierten Beleuchtungsstärken $Q/Q_{\max}$ unterschiedlich wirksame Beleuchtungsstärken im Tier-

auge entsprechen. Qualitativ lassen sich damit die gemessenen Effekte erklären: Z. B. wäre bei P.a. (Abb. 5.2.3) die maximale Intensität $Q_{\max} = Q_0$ noch nicht ausreichend, einen Sättigungseffekt hervorzurufen; verglichen mit den anderen Insekten ist auch die durch Q_0 erzeugte Rechteckantwort klein (ca. 5 mV)¹⁾.

Im Gegensatz zu P.a. zeigt die Modulationskennlinie von C.e.C. schon frühzeitig ein Abknicken und einen Übergang in abnehmende Antwortgrößen. Dies ist zu erwarten, da durch das Fehlen der Schirmpigmente die wirksame Intensität im Tierauge maximal wird²⁾.

Dennoch können die unterschiedlichen Modulationskennlinien nicht allein dadurch erklärt werden, daß sowohl untersuchungstechnische (Ausleuchtung) als auch Versuchsobjekt-spezifische (unterschiedliche Sehpigmentkonzentration, Schirmpigmente usw.) Ursachen die im Tierauge wirksame Quantenzahl modifizieren. Die Modifikation der Intensitätswerte Q/Q_0 mit einem Abschirmfaktor $V = \text{const.}$ führt nämlich in halblogarithmischer Darstellung zu einer Verschiebung der Abszissenwerte $\log Q/Q_0$ um eine Translationsgröße $\log V$. Dies wirkt sich in einer forminvarianten Parallelverschiebung der Kennlinie aus. Auch unter Berücksichtigung der verschiedenen Skalierungsfaktoren ist aber eine solche Forminvarianz zwischen den verschiedenen Kennlinien der Versuchsobjekte nicht gegeben.

Die Modulationskennlinien zeigen also eine Tierart-spezifische Intensitätsabhängigkeit. Dies ist nicht überraschend, soll aber deshalb explizit erwähnt werden, weil die als Integral der Modulationskennlinie definierten physiologischen Kennlinien die Tierart-spezifität weitestgehend maskieren. Dies zeigen die Abb. 5.2.7 bis 5.2.10. Hier sind jeweils neben den integrierten Modulationskennlinien auch die dazugehörigen Rechteckkennlinien dargestellt. Alle Messungen an einem Tier erfolgten unter identischen Randbedingungen. Beide Arten der Kennlinienbestimmung wurden an einem Tier alternierend durchgeführt.

-
- 1) Dafür sind jedoch auch Intensitäts-unabhängige Ursachen denkbar.
 - 2) Auch bei dem Wildtyp C.e. sollten die Schirmpigmente bei "on-axis"-Beleuchtung keinen Einfluß haben. Dies gilt jedoch nicht für konvergentes Licht.

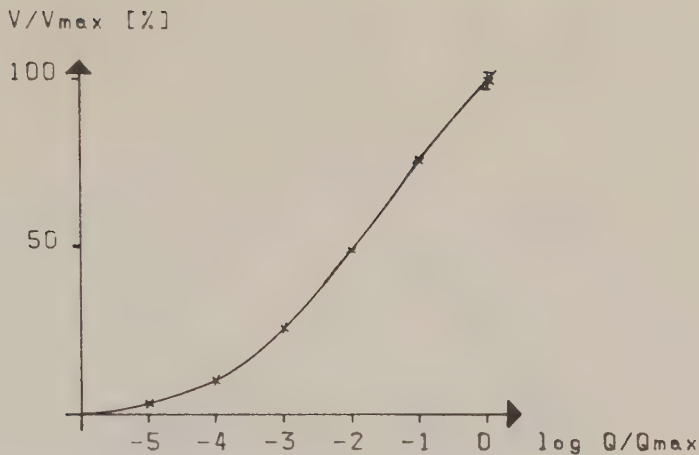


Abb. 5.2.3: Modulationskennlinie bei *Pararge aegeria*;
 $\bar{I}$: Maximale Meßwert-Schwankung bei 3 Meßreihen;
 $V_{\max}$: Maximales Antwortpotential ; $Q_{\max}$: Maximale Reizintensität

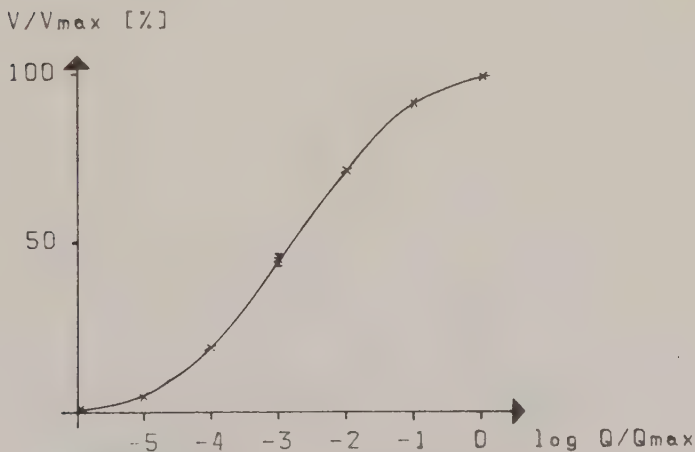


Abb. 5.2.4: Modulationskennlinie bei *Pieris brassicae*;
 $\bar{I}$: Maximale Meßwert-Schwankung bei 3 Meßreihen;

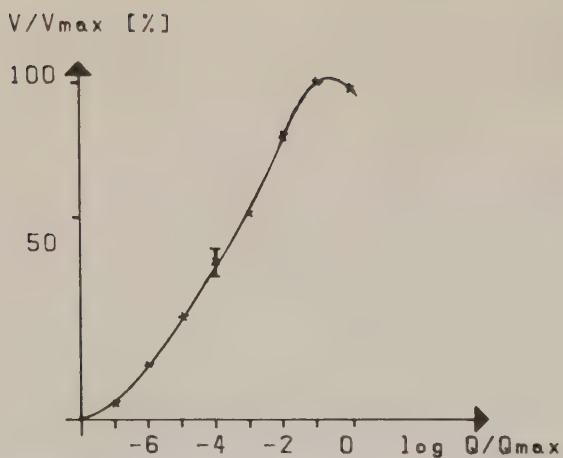


Abb. 5.2.5: Modulationskennlinie bei *Calliphora erythrocephala*;
I: Maximale Meßwert-Schwankung bei 3 Meßreihen;

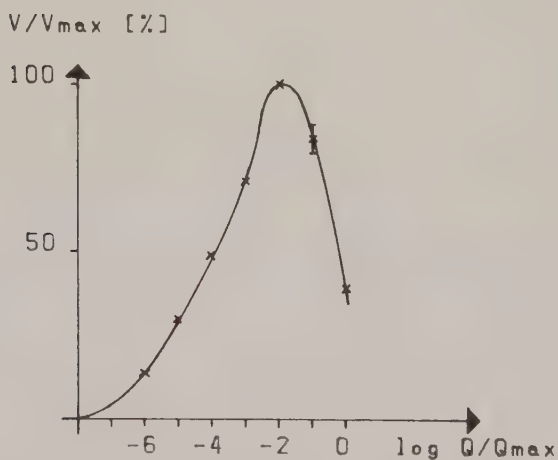


Abb. 5.2.6: Modulationskennlinie bei *Calliphora e. "Chalky"*;
I: Maximale Meßwert-Schwankung bei 3 Meßreihen;

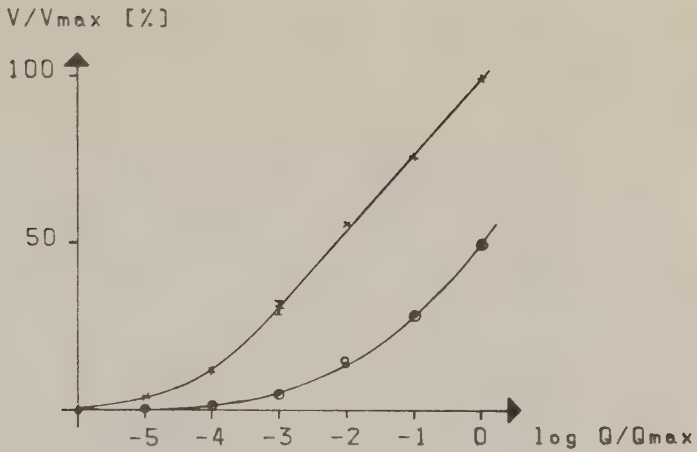


Abb. 5.2.7: Rechteck (x)- und physiologische (•)-Kennlinie bei *Pararge aegeria*;

I: Maximale Meßwert-Schwankung bei 4 Meßreihen;

o: Potentialverlauf bei quasikontinuierlicher Intensitätserhöhung;

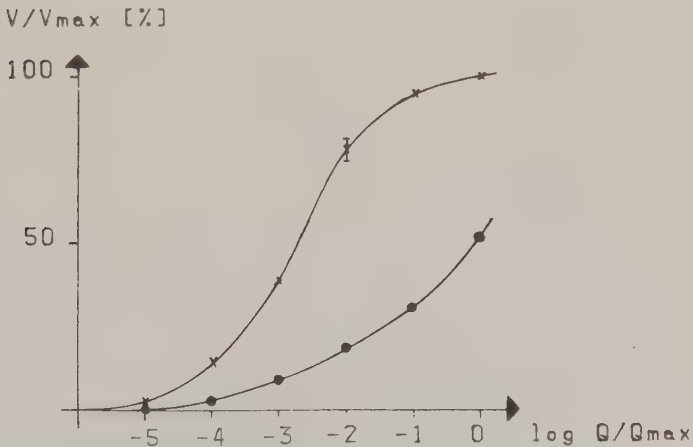


Abb. 5.2.8: Rechteck (x)- und physiologische (•)-Kennlinie bei *Pieris brassicae*;

I: Maximale Meßwert-Schwankung bei 4 Meßreihen;

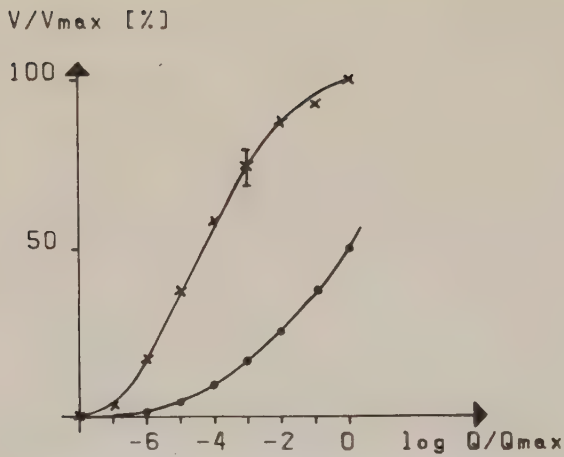


Abb. 5.2.9: Rechteck (x) - und physiologische (•) - Kennlinie bei *Calliphora erythrocephala*, Wildtyp;
I: Maximale Meßwert-Schwankung bei 4 Meßreihen;

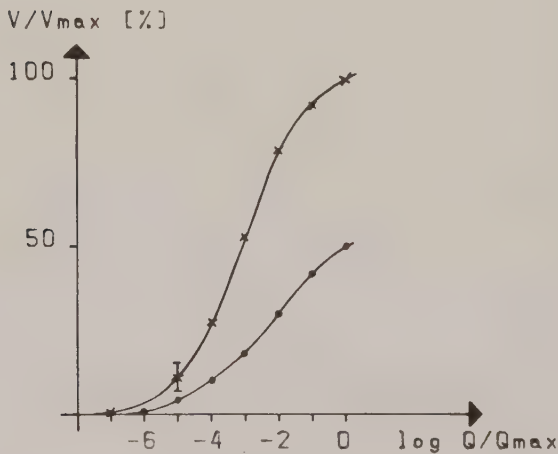


Abb. 5.2.10: Rechteck (x) - und physiologische (•) - Kennlinie bei *Calliphora erythrocephala*, "Chalky";
I: Maximale Meßwert-Schwankung bei 4 Meßreihen;

Während beim stationären Photoelement-Modellsystem Rechteck- und integrierte Modulationskennlinie exakt zusammenfallen (siehe auch Abb. 2.3.8), unterscheiden sie sich bei den dynamischen Sehsystemen der Versuchstiere; alle physiologischen Kennlinien sind in halblogarithmischer Darstellung im mittleren Bereich gegenüber der Rechteckkennlinie immer positiv gekrümmt¹⁾. Dieser Krümmung im halblogarithmischen Bild entspricht eine linearere Übertragungsfunktion als die, die durch einen logarithmischen Zusammenhang gegeben ist. Wenn diese Kennlinie für den modulierten Reiz gültig ist, so bedeutet dies eine geringere Reizverzerrung. Wegen der schon erwähnten Ähnlichkeit des Modulationsstimulus mit physiologischen Umwelt-Bedingungen soll deshalb von einer physiologischen Linearisierung der Übergangsfunktion gesprochen werden. Für die Messungen mit modulierten Reizen (FIS-Messungen) hat sie eine entscheidende Bedeutung: Wenn das biologische Objekt selbst eine Linearisierung seiner Kennlinie durchführt, kann auf eine meßtechnisch ungünstige Linearisierung (durch Modulationsgrad-Beschränkung oder Reizniveau-Ab-senkung²⁾) verzichtet werden.

Mit der physiologischen Kennlinie wäre somit auch erklärbar, daß die FIS-Messungen nicht durch kubische Verzerrungen gestört werden, wie es für den logarithmischen Zusammenhang zu erwarten wäre.

Weiterhin zeigen die Abb. 5.2.8 bis 5.2.10, daß die physiologische Kennlinie im Sättigungsbereich der Übertragungsfunktion des dunkeladaptierten Systems noch ansteigt. Deshalb ist auch bei diesen Beleuchtungsstärken noch eine Modulationsantwort meßbar; die Kennlinie wird jedoch zunehmend nichtlinearer und nähert sich dem logarithmischen Reiz-Antwort-Zusammenhang, einer Geraden in halb-logarithmischer Darstellung.

Im unteren Intensitätsbereich haben sowohl Rechteck- als auch physiologische Kennlinie einen annähernd exponentiell anwachsenden

- 1) Auf die etwas abweichenden Verhältnisse bei C.e.C. wird im nächsten Kapitel eingegangen.
- 2) Eine dritte denkbare Möglichkeit wäre noch die in Kapitel 4.4 angesprochene Entzerrung.

Verlauf; damit ist der Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort in Näherung linear. Wie sich bei gleicher Skalierung jedoch zeigt, ist die lineare Näherung bei der Rechteck-Kennlinie besser erfüllt.

Insgesamt ergeben sich deshalb folgende verzerrende Eigenschaften der physiologischen Kennlinie, wenn man sie mit der Rechteck-kennlinie vergleicht:

Im unteren Intensitätsbereich weicht die für physiologische Reize zuständige Übertragungsfunktion schon früher vom linearen Reiz-Antwort-Zusammenhang ab; das Auftreten von (quadratischen) Verzerrungen erfolgt schon bei kleineren Intensitäten als es bei der Rechteckkennlinie der Fall wäre. Mit zunehmender Intensität jedoch bleibt die physiologische Kennlinie wesentlich linearer als der vergleichbare logarithmische Zusammenhang. Die Verzerrung eines physiologischen Reizes ist auch bei höheren Beleuchtungsstärken im wesentlichen auf die quadratische Nichtlinearität beschränkt; im Detail wird dies später gezeigt (Kapitel 5.3).

Mit noch größeren Beleuchtungsstärken muß aus biotechnischen Erwägungen auch die physiologische Kennlinie ein Sättigungsniveau erreichen. Davor muß die Kurve einen Wendepunkt durchlaufen, in dessen Umgebung höhere Verzerrungen zu erwarten sind.

Aus den experimentellen Gegebenheiten konnten (außer bei C.e.C.) die zu diesen Effekten gehörigen Beleuchtungsstärken jedoch nicht erreicht werden. Allerdings sei noch einmal betont, daß die maximale zur Verfügung stehende Intensität $Q_o = Q_{\max}$ dem Auge einen Lichtreiz bietet, der ca. der Helligkeit an einem Sommertag entspricht. Wesentlich höhere Beleuchtungsstärken sind damit für die untersuchten Tiere unphysiologisch.

Der Verlauf der physiologischen Kennlinie läßt also zwei wesentliche Eigenschaften erkennen:

Zum ersten wird der physiologische Reaktionsbereich intensitätsmäßig gegenüber der Rechteckkennlinie des dunkeladaptierten Systems erweitert. Dieser Effekt ist in der Physiologie hinlänglich bekannt und wird allgemein als Adaptations-Mechanismus bezeichnet. Im Rechteckkennlinien-Bild ist er als eine (annähernd forminvariante) Parallel-Verschiebung der Kennlinien bei verschiedenen Adaptations-Bedingungen meßbar.

Die zweite Eigenschaft der physiologischen Kennlinie, -die gegenüber dem logarithmischen Zusammenhang feststellbare Linearisierung der Übertragungsfunktion-, wurde bisher weniger betrachtet, da sie für Rechteckreiz-Untersuchungen ohne Bedeutung ist. Jedoch wurde dieser Effekt schon früher (bezüglich eines Adaptationsniveaus) gemessen, ohne dabei auf dessen Auswirkungen und Ursachen näher einzugehen: /Leutscher-Hazelhoff, 1975/ beschreibt, daß die Reaktion von C.e. auf sinusförmig modulierte Reize linearer war, als bei einem rein logarithmischen Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort zu erwarten gewesen wäre. Abb. 5.2.11 zeigt dieses Ergebnis.

Schon in ihrer Dissertation (Leutscher-Hazelhoff, 1973) wurde die Vermutung ausgesprochen, daß hauptsächlich 2. Harmonische für die Signalverzerrung von Sinusreizen verantwortlich sind. Dies wird an späterer Stelle in der vorliegenden Arbeit bestätigt.

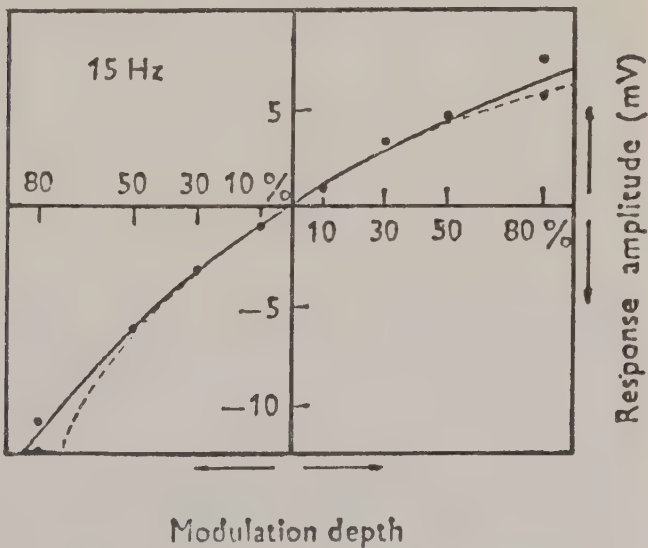


Abb. 5.2.11: Reiz-Antwort-Beziehung auf einen sinusförmigen Modulationsreiz bei *Calliphora erythrocephala* (aus Leutscher-Hazelhoff, 1975); gestrichelt: Logarithmischer Zusammenhang

Die physiologische Kennlinie gibt (wie die Rechteckkennlinie) die Abhängigkeit eines Potentials von der Beleuchtungsstärke an. Man könnte in Analogie zum stationären System vermuten, daß dieses Antwortpotential die Reaktion des Sehsystems auf einen konstanten Lichtreiz (des Adaptationsniveaus) ist. Ausgehend von dieser Überlegung sollte ein Untersuchungsobjekt auf eine langsame Erhöhung der Reizlicht-Intensität eine Potentialantwort liefern, die jeweils dem adaptierten Zustand des Sehsystems und damit der physiologischen Kennlinie entspricht.

In der Tat zeigt eine Messung nach vorstehender Methode bei P.a. den gleichen Verlauf wie die über die Steigung bestimmte Kennlinie; in Abb. 5.2.7 ist dieses Ergebnis durch Kreise dargestellt. Sie decken sich ausgezeichnet mit der physiologischen Kennlinie¹⁾.

Ein völlig anderes Resultat liefert jedoch die Aufzeichnung des adaptierten Potentialverlaufes in Abhängigkeit von der Intensität bei C.e.C. Solche Untersuchungen wurden von /Dörrscheidt-Käfer, 1972/ durchgeführt. Ein Resultat dieser Autorin, welches qualitativ mit eigenen Messungen übereinstimmt²⁾, zeigt Abb. 5.2.12. Hier ist die im adaptiven Zustand gemessene elektrische Antwort auf einen treppenförmigen Rechteckreiz dargestellt. Die Potentialhöhe bezieht sich jeweils auf das im dunkeladaptierten Zustand vorliegende Ruhepotential.

Wie sich aus Abb. 5.2.12 erkennen läßt, hat der adaptierte Potentialverlauf keine Ähnlichkeit mit der physiologischen Kennlinie (Abb. 5.2.10). Hier zeigt sich eine prinzipielle Schwierigkeit dieser Meßart: Alle Werte werden auf das Potentialniveau im dunkeladaptierten Zustand bezogen. Wie jedoch Abb. 5.2.12 bei der "Off"-Reaktion der höchsten Intensitätsstufe zeigt, besteht die damit verbundene Potentialänderung aus einer Abnahme auf eine Größe, die nicht dem anfänglichen Ruhepotential entspricht. Dieses wird erst um Sekunden verzögert in einem sekundären Prozess erreicht. Es ist

1) Damit ist die Richtigkeit Ihrer Skalierung bestätigt.

2) Die Messungen lassen sich gut vergleichen, weil ähnliche maximale Beleuchtungsstärken verwendet werden.

daher schwierig, dem konstanten Bezugspotential ein physiologisches Korrelat zuzuordnen, wenn sich (wie bei C.e.C. der Fall) dieses Bezugsniveau in Abhängigkeit vom Adaptationszustand ändert. Auf keinen Fall beschreibt die in Abb. 5.2.12. dargestellte Potentialhöhe die Antwort auf einen modulierten Reiz. Wird nämlich die Modulation maximal gewählt (minimale Intensität $Q_{\min} = 0$), so ist die Antwort darauf annähernd durch die oben erwähnte "Off"-Reaktion gegeben. Diese ist aber nur ca. halb so groß wie die Potentialhöhe bezüglich des anfänglichen Null-Niveaus. Voraussetzung ist dabei allerdings, daß die Modulationsfrequenz groß genug gegenüber der in Abb. 5.2.12 erkennbaren langsamen Adaptation gewählt wird.

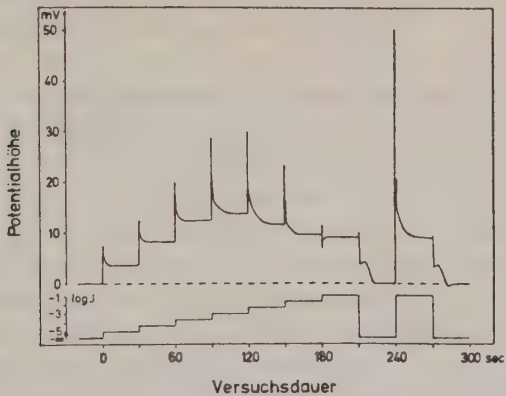


Abb. 5.2.12: Der Verlauf des Rezeptorpotentials (oberer Teil) bei Stufenreizen von jeweils 30 sec Dauer (unterer Teil) (aus Dörrscheidt-Käfer, 1972)

Bei genügend kleiner Frequenz (das Adaptationspotential soll dem Reiz folgen können) müßte ein interessanter Effekt auftreten: Ein Stimulus konstanten Modulationsgrades müßte in Abhängigkeit von der Intensität zuerst eine gleichphasige, dann eine verschwindende und schließlich eine gegenphasige Spannungsreaktion auslösen; d. h., je nach äußerer Beleuchtung ruft ein Hell/Dunkel-Wechsel eine Span-

nungszunahme, eine vernachlässigbare Spannungsänderung oder eine Spannungsabnahme hervor. Zusätzlich sind auch die statischen Gleichpegel doppeldeutig; sie entsprechen im allgemeinen zwei Intensitätswerten.

Wenn man annimmt, daß nur das Spannungssignal des Photorezeptors als Informationsträger zu den nervösen Zentren dient, sollte sich damit für das Tier ein komplizierter Zustand ergeben: Langsame Potentialänderungen können zwei konträre Situationen beschreiben, und das Gleichpotential entspricht zwei Intensitäten. Diesem Dilemma kann das Tier nur dann leicht entgehen, wenn es auf Informationen aus dem unteren Frequenzbereich verzichtet. Wenn solch eine Hochpassung im Tier gegeben ist, ist die Angabe des Potentialverlaufes gemäß Abb. 2.5.12 zur Systembeschreibung biologisch wenig sinnvoll. Dann ist die mit modulierten Reizen gewonnene physiologische Kennlinie nützlicher; sie zeigt, daß für physiologische Reize unabhängig vom Adaptationsniveau eine Intensitätserhöhung mit einer Antworterhöhung korreliert ist und wie sich ihr Betrag in Abhängigkeit vom mittleren Intensitätsniveau ändert.

Aufgrund der Dynamik des Sehprozesses ist zu vermuten, daß die physiologische Kennlinie eine Abhängigkeit von der Modulationsfrequenz aufweisen könnte. Dies ist tatsächlich der Fall, wie Messungen von /Smola, Gemperlein, 1972 b/ zeigen. Diese Autoren haben den Frequenzgang von C.e. unter verschiedenen Intensitäten bestimmt (Abb. 5.2.13). Als "Nebenprodukt" (Schnitte in z-Richtung der 3-dimensionalen Zeichnung) fallen dabei Modulationskennlinien ab. Bei direktem Vergleich ist allerdings zu berücksichtigen, daß als Systemreaktion nicht die Amplitude einer (Fourier-analytisch ermittelten) linearen Antwort, sondern die Antwortgröße (Spitze-Spitze-Signal) der verzerrten Antwort in Abb. 5.2.13 aufgetragen ist. Dennoch zeigt die Abbildung, daß die Frequenzabhängigkeit der Modulationskennlinien (und damit auch der physiologischen Kennlinien) eher quantitativer als qualitativer Art ist, wenn man sich auf einen mittleren Frequenz- und Intensitäts-Bereich beschränkt.

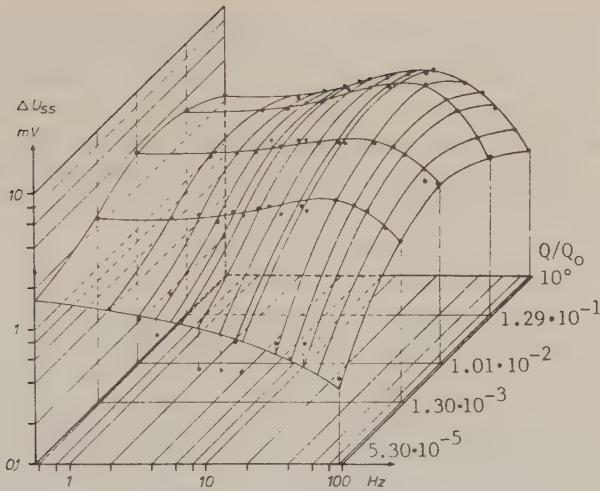


Abb. 5.2.13: Amplituden-Frequenzgang von *Calliphora erythrocephala* bei verschiedenen Intensitäten (aus Smola, Gemperlein, 1972, verändert); ΔU_{ss} beschreibt das Spitze-Spitze-Signal der verzerrten Sinusantwort ;

Implizit wurde bisher davon ausgegangen, daß die physiologische Kennlinie auch die hinsichtlich der Verzerrung gültige Übertragungsfunktion für modulierte Reize ist. Dieser Punkt bedarf noch einer genaueren Diskussion:

Die Modulationskennlinien wurden mit modulierten Reizen konstanten Modulationsgrades auf verschiedenen Intensitätsniveaus bestimmt. Dabei gibt die lineare Systemantwort die Steigung einer Kennlinie wieder, die beim stationären System konstant, beim dynamischen, adaptiven System jedoch variabel ist. Beim konstanten System führt die Integration der Ableitung zur System-Kennlinie, die unabhängig vom Adaptationszustand und von der Reizfrequenz ist (siehe Modell-Messung Kapitel 2.3).

Beim dynamischen, adaptiven System gibt die durch Integration ermittelte Kennlinie nur eine formale Beziehung an, die das gemessene dynamische Übertragungsverhalten so beschreibt , als lägen

stationäre Bedingungen vor. Die Systemdynamiken werden nicht berücksichtigt. Insbesondere ist a priori nicht gegeben, daß ein modulierter Reiz der physiologischen Kennlinie folgt und damit gegenüber dem logarithmischen Zusammenhang linearisiert wird. Auch eine im jeweiligen Arbeitspunkt der physiologischen Kennlinie liegende Tangente führt (bei nicht zu großer Modulation) zu einer ähnlichen Systemantwort, die nun logarithmisch verzerrt ist.

Der analytische Beweis, daß die Reaktion auf modulierte Reize im eingeschwungenen, adaptierten Systemzustand durch die auf stationäre Bedingungen begründete physiologische Kennlinie linearisiert wird, wird in der vorliegenden Arbeit nicht erbracht. Dennoch läßt sich diese Vermutung durch die Experimente untermauern, die im nächsten Kapitel beschrieben werden. Dort wird gezeigt, daß die Verzerrung von sinusförmigen Reizen eng mit dem Verlauf der physiologischen Kennlinie korreliert ist.

Zusammenfassend soll am Schluß dieses Kapitels festgehalten werden:

Eine Bestimmungsfunktion eines Photorezeptors ist die Rechteckkennlinie, die mittels Rechteckreizen verschiedener Intensität bestimmbar ist. Dabei wird ein definierter Adaptationszustand (meist dunkeladaptiert) und ein bestimmter Meßzeitpunkt (meist der Plateau-Wert der Antwort) eingehalten.

Für modulierte Reize um ein mittleres Adaptationsniveau ist diese Kennlinie als Übertragungsfunktion nicht geeignet, da sie adaptive und dynamische Effekte nicht berücksichtigt. Die früher beschriebene Ermittlung der System-Kennlinie mittels modulierter Reize führt jedoch zu einer Kennlinien-Funktion, die den Zusammenhang zwischen Antwortgröße und mittlerem Adaptationsniveau richtig beschreibt.

Wegen der Ähnlichkeit mit natürlichen Umweltreizen werden die Modulationen um ein mittleres Adaptationsniveau als physiologische Reize betrachtet. Die durch sie bestimmte Systemkennlinie wird daher als physiologische Kennlinie bezeichnet.

Diese Kennlinie zeigt gegenüber der bei festem Adaptationsniveau ermittelten Rechteckkennlinie zwei Effekte: Eine Erweiterung des Reaktionsbereiches auf modulierte Reize (Adaptation) und eine geringere Nichtlinearität (physiologische Linearisierung) im mittleren Intensitätsbereich.

Ob aber die physiologische Kennlinie nicht nur das Verhalten der Antwortgröße sondern auch die Verzerrung des modulierten Signals selbst bestimmt, wie es beim stationären System der Fall ist, wäre analytisch noch nachzuweisen.

Die Experimente des nächsten Kapitels werden jedoch zeigen, daß eine große Korrelation besteht zwischen den gemessenen und den vermuteten Verzerrungen, die sich aus dem Verlauf der physiologischen Kennlinie ergeben.

5.3 Die Modulationsgrad-Abhängigkeit der biologischen Systemantwort

In den Kapiteln 2.3 bis 2.5 wurden Untersuchungen mit Einzelsinuszweigen am Modellsystem durchgeführt. Dabei wurde gezeigt, daß ein System sich auch dann noch bezüglich bestimmter Größen linear verhält, wenn es eine quadratisch näherbare Kennlinie besitzt. In diesem Fall gilt die Linearität für die Fourier-analytisch ermittelbare Grundschiwingung. Gleichzeitig wächst bei zeitinvarianten und Reizniveau-unabhängigen Kennlinien die Amplitude des quadratischen Anteils (2. Harmonische) quadratisch mit der Größe der Reizmodulation.

Ein lineares System ist durch das Superpositionsprinzip definiert. Aus diesem Prinzip folgt das proportionale Anwachsen der linearen Antwort mit dem Modulationsgrad. Diese Proportionalität wird durch kubische und höhere Glieder gestört. Sie treten bei Kennlinien auf, die nicht mehr ausreichend quadratisch näherbar sind (siehe z. B. Kapitel 4.3).

Aus den vorstehenden Überlegungen kann man schließen, daß die System-Kennlinie immer dann höchstens quadratisch ist, wenn die lineare Modulationsantwort und der Reiz in Abhängigkeit von der Modulationsgröße zueinander proportional sind.

In Abb. 5.3.1 bis 5.3.4 ist jeweils die Modulationsgradabhängigkeit der linearen und der quadratischen Antwortkomponenten für die Versuchstiere P.a., P.b., C.e., und C.e.C. aufgetragen. Die Modulation erfolgte bei höchstmöglicher Intensität. Bei C.e. und C.e.C. wurde wiederum intrazellulär, bei P.a. und P.b. extrazellulär abgeleitet.

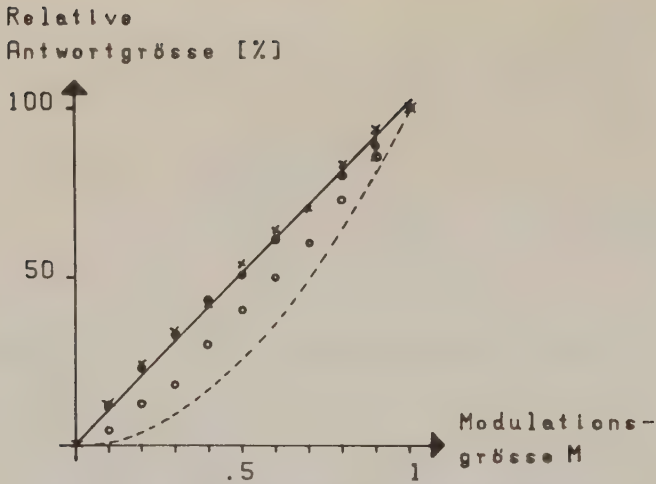


Abb. 5.3.1: Modulationsgrad-Abhängigkeit bei *Pararge aegeria*;
Fourier-analytisch gewonnene Antwortanteile: x, o: 1. Harmonische;
—: Ausgleichskurve; o: 2. Harmonische; ---: Theoretische x^2 -Kurve;
I: Maximale Meßwert-Schwankung in der 1. Harmonischen bei 3 Meß-
reihen;
Der Modulationsgröße $M=1$ entspricht ein Modulationsgrad von $m \approx 80\%$;

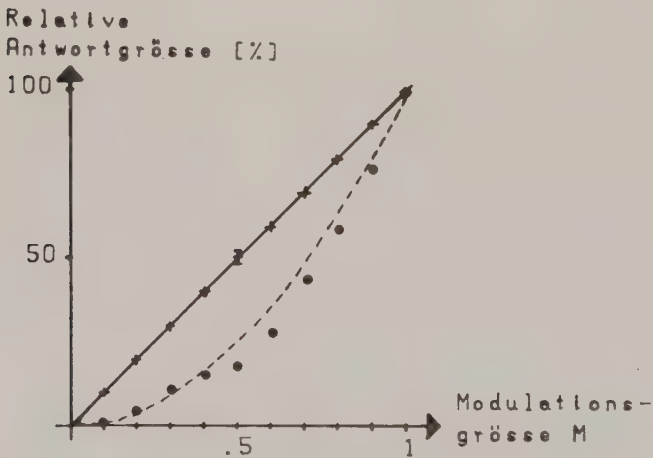


Abb. 5.3.2: Modulationsgrad-Abhängigkeit bei *Pieris brassicae*;
Fourier-analytisch gewonnene Antwortanteile: x: 1. Harmonische;
—: Ausgleichskurve; o: 2. Harmonische; ---: Theoretische x^2 -Kurve;
I: Maximale Meßwert-Schwankung in der 1. Harmonischen bei 3 Meß-
reihen;
Der Modulationsgröße $M=1$ entspricht ein Modulationsgrad von $m \approx 80\%$;

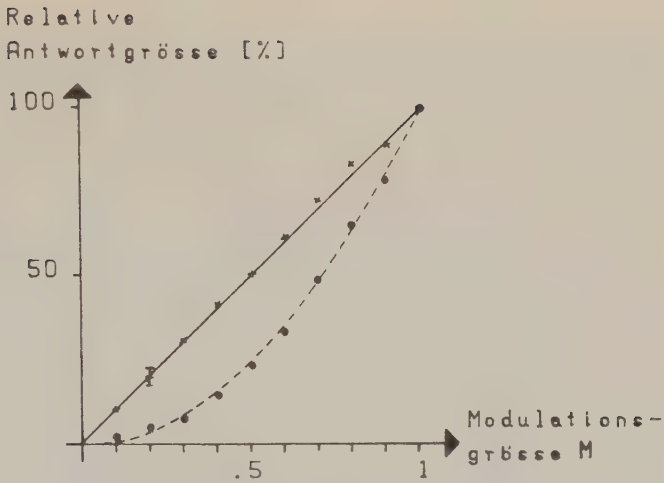


Abb. 5.3.3: Modulationsgrad-Abhängigkeit bei *Calliphora erythrocephala*;

Antwortanteile: x : 1. Harmonische ; — : Ausgleichskurve ;
 • : 2. Harmonische ; --- : Theoretische x^2 -Kurve ;
 I : Maximale Meßwert-Schwankung in der 1. Harmonischen bei 3 Meßreihen ; M=1 entspricht $m \approx 80\%$;

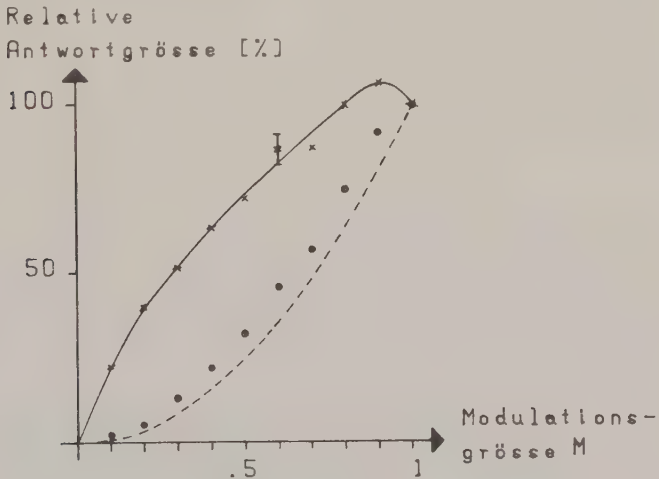


Abb. 5.3.4: Modulationsgrad-Abhängigkeit bei *Calliphora erythrocephala*, "Chalky" ;

Antwortanteile: x : 1. Harmonische ; — : Ausgleichskurve ;
 • : 2. Harmonische ; --- : Theoretische x^2 -Kurve ;
 I : Maximale Meßwert-Schwankung in der 1. Harmonischen bei 3 Meßreihen ; M=1 entspricht $m \approx 80\%$;

Abgesehen von dem Ergebnis bei C.e.C. zeigen alle Versuchstiere im Rahmen der Meßgenauigkeit eine Proportionalität zwischen der Größe der Reizmodulation und der Fourier-analytisch ermittelten linearen Antwortkomponente. Bei C.e.C. jedoch ist (übereinstimmend mit dem Verlauf der physiologischen Kennlinie) eine starke Verzerrung der linearen Abhängigkeit feststellbar.

Die quadratischen Antwortanteile wachsen bei allen Versuchstieren überproportional. Bei P.b., C.e. und C.e.C. ist die Abhängigkeit annähernd quadratisch, bei P.a. ist der Anstieg flacher.

Wenn man diese Ergebnisse (ausschließlich C.e.C.) diskutiert, zeigen alle Versuchstiere hinsichtlich der linearen Antwort ein Verhalten, welches auf eine höchstens quadratische Kennlinie hinweist. Dies wird auch durch den Verlauf der 2. Harmonischen bestätigt; bei P.a. scheint die quadratische Verzerrung jedoch eine Modulationsgrad-Abhängigkeit aufzuweisen.

Gegenüber dem durch die Rechteckkennlinie gegebenen logarithmischen Zusammenhang verhält sich also die für Modulationen zuständige Übertragungsfunktion linearer. Dies ist qualitativ auch bei der physiologischen Kennlinie der Fall.

Aus der in Abb. 5.3.4 dargestellten Modulationsgrad-Abhängigkeit von C.e.C. läßt sich ableiten, daß bei diesem Tier große Signalverzerrungen auftreten müssen. Das läßt sich auch an der physiologischen Kennlinie erkennen, die im Reiz-Intensitäts-Bereich eine gegenüber dem logarithmischen Zusammenhang negative Krümmung aufweist. Die lineare Antwort wird bei C.e.C. mit zunehmendem Modulationsgrad reduziert, wie es auch beim stationären System bei verschiedenen Vorzeichen von kubischem und linearem Antwortanteil zu erwarten ist. Die Phasenlagen der linearen Antwortbeiträge und damit ihrer Summenamplitude können jedoch zusätzlich noch durch die Dynamik des Photorezeptors modifiziert werden (siehe auch Kapitel 5.6).

In diesem Zusammenhang sollen noch einmal die dynamischen und adaptiven Eigenschaften des biologischen Systems berücksichtigt werden. Der oben getroffene Schluß von der Proportionalität der linearen Antwort auf eine der Modulationsübertragung zugrunde liegende quadratische Kennlinie ist streng nur für ein stationäres System

gültig. Bei einem dynamischen, adaptiven System sind durchaus Mechanismen denkbar, die trotz hoher kubischer Verzerrung zu einem linearen Reiz/Antwort-Zusammenhang führen. Z. B. könnte sich die Kennlinie in Abhängigkeit des Modulationsgrades in geeigneter Weise so verformen, daß eine zum Modulationsreiz proportionale kubische Verzerrung auftritt. Diese Störung führt beim Einzelsinus-Reiz ebenfalls zu einer Proportionalität zwischen linearer Antwort und Stimulus. Bei einem komplexen Sinusreiz jedoch erzeugt ein solcher Mechanismus durch die Frequenzmischung eine Störung in der 1. Harmonischen.

Eine variable, Modulationsgrad-abhängige Kennlinie könnte z. B. bei P.a. vorliegen. Dies würde erklären, daß die Antwortamplitude der 2. Harmonischen weniger stark wächst verglichen mit dem Verhalten bei einer stationären Kennlinie. Dagegen spricht jedoch eine gegenüber dem logarithmischen Zusammenhang reale Amplituden-Reduktion der kubischen Verzerrung, die bei allen Versuchsobjekten feststellbar ist:

Bei einem Modulationsgrad $m = 82\%$ beträgt im logarithmischen Fall die Antwortgröße der 3. Harmonischen 9% der linearen Antwort. Bei gleicher Modulation und maximaler Intensität ist dieser Wert bei P.a. $\approx 4\%$, bei P.b. $\approx 2\%$ und bei C.e. $\approx 3\%$. Eine bisher in stationärer Näherung begründete Linearisierung der Kennlinie erfolgt also tatsächlich und wird nicht durch dynamische Effekte vorgespiegelt.

Wenn somit die sich aus stationären Annahmen ergebenden Gesetzmäßigkeiten zumindest qualitativ gültig sind, sollte C.e.C. wegen seiner stark verzerrten Modulationsgrad-Abhängigkeit einen großen kubischen Antwortanteil aufweisen. Auch dies bestätigt sich; seine Amplitude beträgt bei der maximalen Intensität Q_0 und einem Modulationsgrad $m = 82\%$ ungefähr 17% der linearen Antwort.

Um die obigen Angaben richtig einschätzen zu können, müssen drei Punkte berücksichtigt werden:

Zum einen nimmt die Störampitude der 3. Harmonischen überproportional mit dem Modulationsgrad ab. Wenn also physiologische Reizsituationen eine geringere Modulation als 82% aufweisen (dies ist

zu vermuten), wird der kubische Störanteil weiter stark verringert. Die Linearität der Signalübertragung wächst folglich mit kleiner werdendem Modulationsgrad.

Zum zweiten wird auch mit abnehmender Intensität im Normalfall¹⁾ die kubische Verzerrung abnehmen. Dies zeigt die Fourier-Analyse der Modulationsantworten, die für verschiedene Intensitäten zur Ermittlung der physiologischen Kennlinie aufgezeichnet wurden. Auch die physiologische Kennlinie selbst zeigt eine Zunahme der positiven Krümmung (und damit eine Abnahme der kubischen Verzerrung) zu niedrigeren Intensitäten.

Unter diesem Gesichtspunkt läßt sich auch eine Adaptation der Versuchstiere an ihre Umgebung vermuten: Der Kohlweißling, der durch seine Lebensweise starken Beleuchtungsstärken ausgesetzt ist, zeigt bei gleicher Intensität eine geringere Verzerrung als das Waldbrettspiel, welches einen schattigen Lebensraum bevorzugt. Unter den natürlichen Umweltbedingungen ist es deshalb möglich, daß beide Schmetterlinge in etwa die gleichen, niedrigen Verzerrungen für modulierte Reize aufweisen.

Als dritter Punkt zu den Wertangaben der kubischen Verzerrung ist noch zu berücksichtigen, daß das Reizgerät selbst einen Verzerrungsanteil beiträgt ($\approx 1\%$). Dieser wurde in Form einer unteren Abschätzung in Rechnung gestellt.

Aus den drei hier angeführten Punkten ergibt sich somit, daß die Amplituden-Angaben der 3. Harmonischen als obere Grenzwerte nur für eine bestimmte Intensität und einen definierten Modulationsgrad gültig sind.

Die starke Abhängigkeit der Verzerrung von der Intensität zeigt sich auch in den nachfolgenden Versuchen:

Abb. 5.3.5 und 5.3.6 stellen Ergebnisse von C.e. dar, wobei das mittlere Intensitätsniveau gegenüber Abb. 5.3.3 geändert wurde. Während eine geringere Intensität ($Q = 10^{-3} \cdot Q_0$) die Modulationsgrad-Abhängigkeit der linearen und quadratischen Antwort qualitativ

1) C.e.C. zeigt erst eine Zunahme und dann eine Abnahme.

nicht ändert (vergleiche Abb. 5.3.5 mit Abb. 5.3.3), führt eine Erhöhung der Intensität ($Q \gg Q_0$) zu einer Verzerrung (siehe Abb. 5.3.6). Diese größere Intensität wurde versuchstechnisch durch eine andere Abbildung erreicht, die auf den üblichen FIS-Aufbau verzichtet. Damit war es möglich, auch bei C.e. eine starke Rückwirkung kubischer Verzerrungen auf die lineare Antwort zu erhalten.

Es ist interessant, daß die absolute Größe der Modulationsantwort zwischen den in Abb. 5.3.3 bzw. 5.3.6 dargestellten Messungen, also mit zunehmender mittlerer Intensität, geringfügig abnahmen. Ein ähnlicher Effekt ist auch bei C.e.C. feststellbar. Wie aus der Modulationskennlinie ersichtlich (Abb. 5.2.6), wächst bei "Chalky" mit abnehmender Intensität erst die Modulationsamplitude, durchläuft bei $Q \approx 10^{-2} \cdot Q_0$ ein Maximum und nimmt dann gleichphasig mit der Beleuchtungsstärke ab. In der physiologischen Kennlinie drückt sich dies durch einen Wendepunkt im Kurvenverlauf aus (Abb. 5.2.10).

In Abb. 5.3.7 und 5.3.8 sind die Abhängigkeiten vom Modulationsgrad bei kleineren Intensitäten für C.e.C. aufgetragen. Es zeigt sich, daß mit abnehmender Beleuchtungsstärke auch die Verzerrung in einer Weise abnimmt, die dem qualitativen Verlauf der physiologischen Kennlinie ähnelt¹⁾.

Wenn man den Verlauf der Modulationskennlinie und die hier dargestellten Ergebnisse berücksichtigt, ergibt sich verallgemeinernd ein Sachverhalt, der meßtechnisch bedeutsam ist: Es ist beim biologischen Objekt nicht sinnvoll, die mittlere Intensität eines modulierten Reizes zu hoch zu wählen, weil dann die Antwortgröße ab- und die kubische Signalverzerrung zunimmt. Vielmehr sollte die Modulation um ein Niveau erfolgen, welches so gewählt wird, daß die Antwortgröße noch nicht ganz ihr Maximum erreicht hat; dann bleiben die Verzerrungen auf das quadratische Glied beschränkt.

1) Die Messungen erfolgten nicht alle an der gleichen Zelle; daher ist nur ein qualitativer Vergleich möglich.

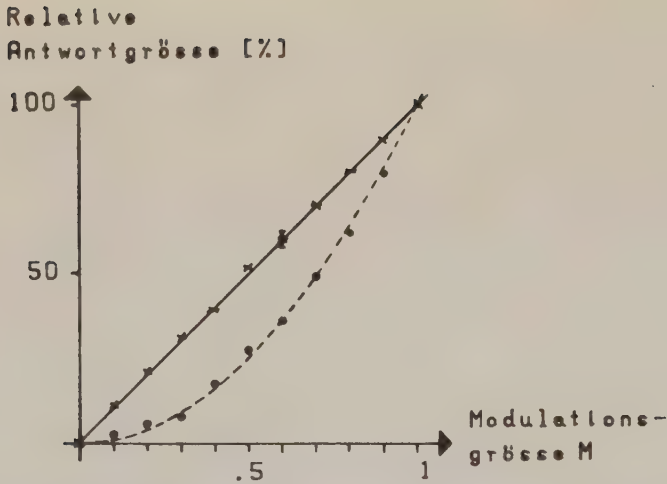


Abb. 5.3.5: Modulationsgrad-Abhängigkeit bei *Calliphora erythrocephala* bei einer mittleren Reizintensität $Q=10^{-3} \cdot Q_0$;
Antwortanteile: x: 1. Harmonische ; —: Ausgleichskurve ;
•: 2. Harmonische ; ---: Theoretische x^2 -Kurve ;
I: Maximale Meßwert-Schwankung in der 1. Harmonischen bei 3 Meß-
reihen ; $M=1$ entspricht $m=80\%$

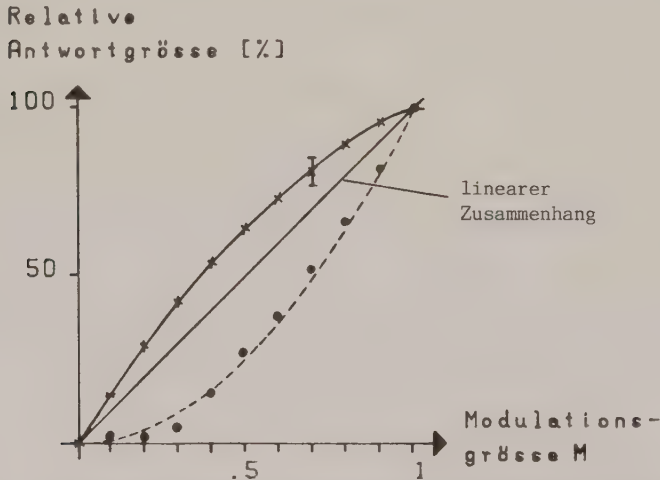


Abb. 5.3.6: Modulationsgrad-Abhängigkeit bei *Calliphora erythrocephala* bei einer mittleren Reizintensität $Q \gg Q_0$;
Antwortanteile: x: 1. Harmonische ; —: Ausgleichskurve ;
•: 2. Harmonische ; ---: Theoretische x^2 -Kurve ;
I: Maximale Meßwert-Schwankung in der 1. Harmonischen bei 3 Meß-
reihen ; $M=1$ entspricht $m=80\%$;

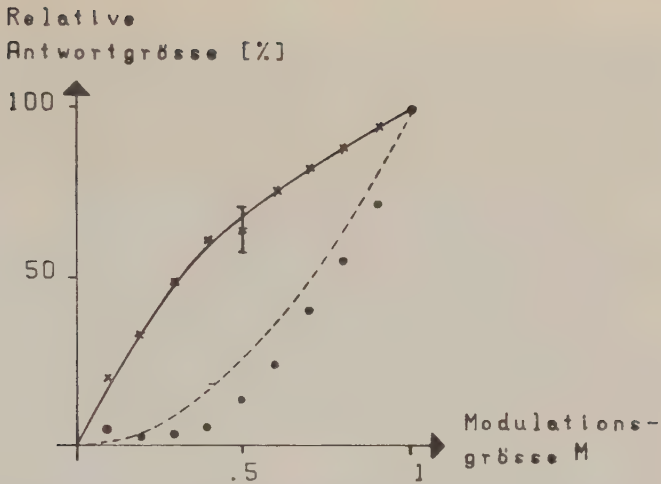


Abb. 5.3.7: Modulationsgrad-Abhängigkeit bei *Calliphora erythrocephala* "Chalky" bei einer mittleren Reizintensität $Q=10^{-2} \cdot Q_0$; Antwortanteile: x: 1. Harmonische ; — : Ausgleichskurve ; •: 2. Harmonische ; ---: Theoretische x^2 -Kurve ; I: Maximale Meßwert-Schwankung in der 1. Harmonischen bei 3 Meßreihen ; $M=1$ entspricht $m \approx 80\%$

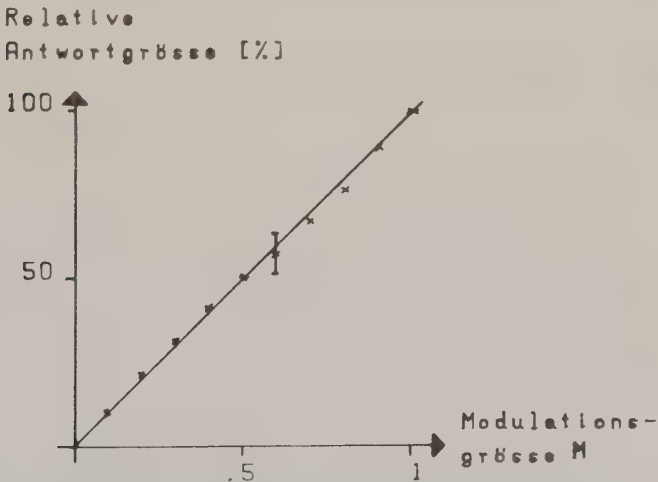


Abb. 5.3.8: Modulationsgrad-Abhängigkeit bei *Calliphora erythrocephala* "Chalky" bei einer mittleren Reizintensität $Q=10^{-4} \cdot Q_0$; Antwortanteile: x: 1. Harmonische ; — : Ausgleichskurve ;

I: Maximale Meßwert-Schwankung in der 1. Harmonischen bei 3 Meßreihen ; $M=1$ entspricht $m \approx 80\%$

Geht man davon aus, daß ein Tier unter seinen natürlichen Umwelt-Beleuchtungsstärken die maximale Modulationsantwort (und damit die größte Kontrastempfindlichkeit) liefert, so führen erst stärkere, in der natürlichen Umwelt selten vorkommende Intensitäten zu einer größeren Signalverzerrung. Bei den häufig auftretenden schwächeren Intensitäten werden modulierte Reize höchstens quadratisch verzerrt. Eventuell könnte diese geringere Verzerrung im physiologischen Reizbereich für ein Tier von Bedeutung sein (siehe auch Kapitel 5.4).

Die quadratische Kennlinien-Entzerrung wurde vorerst für eine Modulationsfrequenz (7 Hz) gemessen. Auch die von /Leutscher-Hazelhoff, 1975/ durchgeführte Untersuchung der Fliege C.e. mit modulierten 15 Hz-Reizen zeigt ein qualitativ ähnliches Ergebnis (siehe Kapitel 5.2., Abb. 5.2.11).

Ob die Quadratisierung auch bei anderen Frequenzen wirksam ist, kann aufgrund der vorliegenden Daten nicht beantwortet werden. Unter dem Gesichtspunkt "natura non saltat" wird jedoch davon ausgegangen, daß die Quadratisierung zumindest für den gesamten FIS-Frequenzbereich (ca. 5 - 9 Hz) gültig ist. Die experimentellen Befunde bestätigen diese Annahme: Wie früher schon erwähnt, ist die Veränderung der SE-Kurve bei Abnahme der mittleren Intensität sehr gering. Sie kann eher durch reale Abhängigkeiten der SE von der Beleuchtungsstärke als durch einen Übergang von logarithmischer Verzerrung zu linearem Reiz-Antwort-Zusammenhang gedeutet werden (siehe Paul, Steiner, Gemperlein, 1984).

Weiterhin zeigen die aus der linearen Antwort errechneten quadratischen Verzerrungen bei C.e. eine große Übereinstimmung mit den gemessenen Ergebnissen (siehe Kapitel 6.8). Dies wäre bei einer kubischen Verzerrung nicht zu erwarten.

Deshalb soll zusammenfassend festgehalten werden:

Für modulierte Reize um ein mittleres Intensitätsniveau (physiologische Reize) zeigen die untersuchten Tiere eine vom logarithmischen Zusammenhang abweichende Reiz-Antwort-Beziehung. Sie ist von mehreren Parametern (Frequenz, Intensität, Tierart) abhängig. Dabei weisen die Versuchsobjekte folgende Gemeinsamkeit auf: Mindestens

im Frequenzbereich um 7 Hz (bei der Fliege auch um 15 Hz) findet eine Linearisierung der Übertragungsfunktion statt (physiologische Linearisierung), wenn man sich auf einen Intensitätsbereich beschränkt, dessen obere Grenze durch die maximale Modulationsantwort gegeben ist. Bei höheren Intensitäten nimmt die Verzerrung stark zu.

Diese Übertragungseigenschaften des Photorezeptors sind eng mit dem Verlauf der physiologischen Kennlinie korreliert.

Für die FIS-Messungen ist die physiologische Linearisierung von entscheidender Bedeutung; durch die Quadratisierung der Rezeptor-Kennlinie werden die störenden kubischen Verzerrungen stark reduziert. Damit ist eine Bestimmung der SE-Kurve mittels der FIS-Methode mit hoher Genauigkeit möglich.

Verallgemeinert man die bisherigen experimentellen Befunde, läßt sich folgende Frage stellen:

Hat die physiologische Linearisierung auch eine biologische Bedeutung, oder ist sie nur ein biotechnischer "Zufall", der die Experimente mit modulierten Reizen stark begünstigt?

5.4 Die mögliche Bedeutung der physiologischen Linearisierung für ein biologisches Sehsystem

Im folgenden wird davon ausgegangen, daß 1. die Verzerrungen der Photorezeptor-Kennlinie unter natürlichen Umweltbedingungen auf den quadratischen Fall beschränkt bleiben, und daraus folgend 2. die Krümmung der Kennlinie gegenüber dem logarithmischen Zusammenhang positiv ist; die für physiologische Reize gültige Übertragungsfunktion soll also den Verlauf der physiologischen Kennlinie haben. Der zu erwartende Sättigungsbereich bei höheren Intensitäten wird nicht berücksichtigt; der Kennlinienverlauf von C.e.C. wird am Ende dieses Kapitels gesondert betrachtet.

Eine Folge der physiologischen Linearisierung ist die Abweichung der Kennlinie vom logarithmischen Zusammenhang. Aus der physiologischen Kennlinie folgt damit direkt die Ungültigkeit des Weber-Fech-

nerschen Gesetzes. Wie früher erwähnt, beschreibt dieses Gesetz den Zusammenhang zwischen einem Testreiz dQ , der zu einer festgelegten Antwort (z. B. Empfindlichkeitsschwelle) führt, und dem Adaptationsniveau Q . Nach dem Weber-Fechnerschen Gesetz gilt dann:

$dQ = C \cdot Q$, wobei C eine von Q unabhängige Konstante ist.

Durch Logarithmierung beider Seiten ergibt sich:

$$\log dQ = \log Q + \log C$$

In der doppellogarithmischen Auftragung muß folglich bei Gültigkeit des Weber-Fechnerschen Gesetzes der Zusammenhang zwischen Reiz und Adaptationslicht eine Gerade mit der Steigung 1 sein.

Dieser Zusammenhang ist auf der Grundlage der physiologischen Kennlinie nicht gültig; aufgrund der positiven Krümmung muß die zur gleichen Antwort führende normierte Reizgröße dQ/Q mit wachsendem Adaptationsniveau Q abnehmen. Damit ist auch die Steigung des Graphen $\log dQ$ in Abhängigkeit von $\log Q$ kleiner als 1.

Dieses Ergebnis ist nicht neu, sondern wird z. B. durch frühere Messungen von /Baumann, 1968/ am Bienenrezeptor (Drohne) und von /Dörrscheidt-Käfer, 1972/ an den Rezeptoren R1 - 6 von C.e.C. bestätigt. Die vorgenannten Autoren konnten zeigen, daß in einem mittleren Intensitätsbereich bei doppellogarithmischer Auftragung von Reiz- und Adaptationslicht eine Gerade entsteht, deren Steigung (im Widerspruch zum Weber-Fechnerschen Gesetz) kleiner als 1 ist.

Ein ähnliches Ergebnis zeigt auch die psycho-physische Bestimmung der Schwellenempfindlichkeit beim Menschen (Blakemore, Rush-ton, 1965). Hier ist ebenfalls bei lokaler Erregung weniger Stäbchen mit nicht zu hoher Intensität eine Erhöhung der Kontrastwahrnehmung mit zunehmender Beleuchtung festzustellen.

In qualitativer Übereinstimmung mit diesen Experimenten bestätigt auch der Verlauf der physiologischen Kennlinie, daß das Weber-Fechnersche Gesetz auf Rezeptorebene nur in Näherung gültig ist.

Damit stellt sich die Frage, ob die evolutorisch sicher vorteilhafte Kontrastkonstanz aus biologischen Gründen nicht besser erreicht werden konnte, oder ob eine nur angenäherte Kontrastkonstanz mit Vorteilen verbunden ist, die eine bessere Adaptation an die Um-

welt ermöglichen.

Ein Vorteil könnte die Linearisierung der Rezeptor-Kennlinie sein. Sie ist unvereinbar mit dem durch das Weber-Fechnerschen Gesetz gegebenen logarithmischen Reiz-Antwort-Zusammenhang. Ein System, welches also beide Bedingungen so gut wie möglich erfüllen will, muß notwendigerweise einen Kompromiß zwischen Linearisierung und Logarithmisierung der Kennlinie durchführen; dies ist für eine "quadratische" Kennlinie erfüllt.

Der mögliche Nutzen einer lineareren Übertragungsfunktion für ein biologisches Objekt soll im folgenden diskutiert werden.

Neben realen Bewegungsreizen werden viele dynamische Reizsituationen durch die Relativbewegung von wahrnehmenden Objekten zur Umwelt erzeugt. Dadurch werden örtlich unterschiedliche Helligkeiten (Ortsfrequenzen) in zeitliche Intensitätsschwankungen (komplexer Modulationsreiz) transformiert. Ein rechteckiger, sprunghafter Intensitätswechsel kommt dabei im allgemeinen wegen des Öffnungswinkels des Rezeptors nicht vor; ein dunklerer bzw. hellerer Gegenstand "kriecht" stetig in den Rezeptor-Sehbereich und erzeugt somit eine kontinuierliche Intensitätsänderung.

Dies bedeutet, daß ein Umweltreiz durch einen komplexen Sinusreiz in hohem Maße angenähert wird. Die Ähnlichkeit zeigt sich noch deutlicher, wenn man berücksichtigt, daß sich jeder Modulationsreiz Fourier-analytisch in sinusförmige Frequenz-Komponenten zerlegen läßt. In einer dynamischen Reizsituation führen deshalb Nichtlinearitäten zu analogen Effekten wie beim komplexen Sinusreiz; das Ausgangssignal des Photorezeptors wird verzerrt und ist nicht mehr amplituden- bzw. frequenztreu zum Reiz.

Ob und inwieweit dies für das (Über-) Leben eines Tieres eine Rolle spielt, kann im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden, zumal erst wenige Untersuchungsergebnisse über den Frequenzgehalt und die Modulationstiefe natürlicher Umweltreize vorliegen (siehe Rückel, 1975). Im Vergleich mit der in den Experimenten beobachteten Helligkeitsänderung bei einem Modulationsgrad von ca. 80% erscheint es mir subjektiv jedoch als wahrscheinlich, daß ein natürlicher Reiz eine wesentlich geringere Modulationstiefe aufweist.

Auch aus den Ergebnissen von Rückel läßt sich abschätzen, daß der Modulationsgrad unter natürlichen Umweltbedingungen im allgemeinen kleiner als 50% sein dürfte. Als Folge davon wäre unter Berücksichtigung der physiologischen Linearisierung ein annähernd proportionaler Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort gegeben.

Aber auch bei einem quadratischen Zusammenhang sind noch einfache Mechanismen denkbar, die (zumindest für Einzelreize) einen linearen Reiz-Antwort-Zusammenhang erzeugen. Solch eine Möglichkeit ist z. B. die Frequenzfilterung des Antwortsignals. Dies findet eventuell bei der Schmeißfliege statt: Bei C.e. werden Frequenzen oberhalb ca. 100 Hz in zunehmendem Maße gedämpft. Für Sinsureize, deren Frequenz über 50 Hz liegt, fällt die 1. Oberschwingung schon in den Bereich anwachsender Amplitudendämpfung. Dies stimmt mit der Beobachtung überein, daß bei Einzelsinusreizen mit höheren Frequenzen als 60 Hz nur noch vernachlässigbare Verzerrungen der Systemantwort auftreten (Leutscher-Hazelhoff, 1973).

Es wurde aber schon in Kapitel 4.4 gezeigt, daß eine Frequenzfilterung immer dann unwirksam ist, wenn kubische und höhere Verzerrungen auftreten. Dann liegt keine Proportionalität zwischen Reiz und Antwort mehr vor, wie sie im quadratischen Fall gegeben ist.

Auch hinsichtlich statischer Reize ist ein quadratischer Reiz-Antwort-Zusammenhang¹⁾ gegenüber kubischen und höheren Abhängigkeiten ausgezeichnet. Dies soll im folgenden gezeigt werden:

Es wird angenommen, daß zwei Rezeptoren unterschiedliche Helligkeiten x_1 bzw. x_2 wahrnehmen und über einen Zusammenhang $y = \alpha + \beta x + \gamma x^2 + \dots$ in eine Antwort y_1 bzw. y_2 transformieren: Bei linearer Beschränkung gilt dann für die Differenz $dy = y_2 - y_1$

$$dy = \alpha + \beta x_2 - \alpha - \beta x_1 = \beta (x_2 - x_1)$$

Das Differenzsignal ist also linear vom physikalischen Helligkeitsunterschied abhängig.

1) Er ist annähernd bei P.a. erfüllt (siehe Abb. 5.2.7, offene Kreise).

Bei Berücksichtigung des quadratischen Gliedes gilt:

$$dy = (\beta + \gamma \cdot 2\bar{x}) \cdot (x_2 - x_1) \quad \text{mit } \bar{x} = \frac{x_2 + x_1}{2}$$

Die Größe $\bar{x}$ bezeichnet hierbei das mittlere Intensitätsniveau, welches sich z. B. durch Summation der Rezeptorsignale ergibt. Wenn $\bar{x}$ konstant bleibt, ist also auch im quadratischen Fall die Antwortdifferenz nur eine lineare Funktion der Intensitätsunterschiede. Falls sich $\bar{x}$ ändert, kann diese Änderung noch relativ einfach berücksichtigt werden.

Enthält der Reiz-Antwort-Zusammenhang auch ein kubisches Glied, so ergibt sich für dy :

$$\begin{aligned} dy &= (\beta + \gamma \cdot 2\bar{x}) \cdot (x_2 - x_1) + \delta \cdot (x_2^2 + x_1 x_2 + x_1^2) \cdot (x_2 - x_1) = \\ &= (LG + NG) \cdot (x_2 - x_1) \quad , \end{aligned}$$

wobei $LG = \beta + \gamma \cdot (x_1 + x_2)$ und $NG = \delta \cdot (x_2^2 + x_1 x_2 + x_1^2)$.

Im Falle eines kubischen Gliedes hängt also die Antwortdifferenz nichtlinear mit der Helligkeitsdifferenz zusammen. Als Folge davon sind Helligkeitsunterschied dx und Antwortunterschied dy zueinander nicht mehr proportional.

Berücksichtigt man die Human-Experimente mit stabilisierten Netzhautbildern oder den Potentialverlauf auf Adaptationslicht bei C.e.C. (siehe Abb. 5.2.12) ist es fraglich, ob biologische Objekte Gleichlichtpegel verarbeiten können. Wenn es jedoch für ein Tier sinnvoll und nützlich wäre, die wahrgenommenen Helligkeitsdifferenzen in linearer Abhängigkeit von den physiologischen Intensitäten zu erfahren, so ist dies auch bei sich ändernder mittlerer Beleuchtungsstärke noch einfach möglich unter folgender Bedingung: Es muß im Rezeptor eine Übertragungsfunktion vorliegen, die Nichtlinearitäten weitestgehend bis auf das quadratische Glied reduziert. Dies ist bei den gemessenen physiologischen Kennlinien der Fall.

Nur die Kennlinie von C.e.C. zeigt ein davon abweichendes Ver-

halten: Bei höheren Beleuchtungsstärken treten größere Verzerrungen des modulierten Reizes auf. /Dörrscheidt-Käfer, 1972/ argumentierte aufgrund von Empfindlichkeitsuntersuchungen unter Adaptationslicht-Zusatz, daß bei C.e.C. schon unter physiologischen Intensitätsbedingungen Blendungsphänomene auftreten. Bei den hier angesprochenen Messungen dieser Autorin wurde das Fliegenauge homogen ausgeleuchtet. Da der Mutanten "Chalky" die Schirmpigmente fehlen, ist besonders bei homogener oder auch konvergenter Beleuchtung mit einem gegenüber dem Wildtyp erhöhten Lichtpegel im Rhabdomer zu rechnen. Deshalb ist es fraglich, ob die für den Wildtyp gültigen physiologischen Intensitätsbedingungen sich auf die Mutante übertragen lassen. Eventuell sind die Beleuchtungsstärken die bei C.e. eine physiologische Reaktion hervorrufen, für C.e.C. wegen der fehlenden Abschirmpigmente ausreichend, um auch den adaptierten Rezeptor zu überlasten. Dafür spricht zusätzlich die abnehmende Antwortgröße mit zunehmender Intensität. Aus diesen Gründen erscheint es mir nicht sinnvoll, den Begriff "physiologische Intensitätsbedingungen" auf ein Tier zu übertragen, dessen Lichtsinnesapparat mutativ (oder auch pathologisch) verändert ist.

Ein "Verhaltensexperiment" im täglichen Laborgebrauch stützt obige Überlegung: Bei hellem Tageslicht zeigt C.e.C. im Gegensatz zu C.e. eine wesentlich geringere Fluchtreaktion gegenüber der fangenden menschlichen Hand. Dies ist zum einen sicher darin begründet, daß wegen der fehlenden Pigmente die Kontrastempfindlichkeit stark verringert ist; dadurch wird die Umwelt schlechter "erkannt". Zum zweiten wird aber auch die Rezeptor-Antwort auf eine Helligkeitsänderung geringer, wenn der Arbeitspunkt der Sehzelle sich in den Sättigungsbereich der Übertragungsfunktion verschiebt.

Unter natürlichen Umweltbedingungen hat C.e.C. somit nur eine geringe Überlebenschance. Wenn man folglich die Übertragungseigenschaften der adaptierten Sehzellen auf ihre biologische Bedeutung untersucht, muß C.e.C. als "unnatürlicher" Sonderfall angesehen werden, der keine Allgemeingültigkeit haben kann.

Zusammenfassend soll deshalb festgehalten werden:

Abgesehen von der Augenmutante C.e.C. zeigen die untersuchten biologischen Objekte qualitativ folgende gemeinsame Übertragungseigenschaften auf physiologische Reize: Die verzerrende Wirkung einer logarithmischen Kennlinie wird deutlich reduziert. Damit wird eine größere Signaltreue für natürliche Umweltreize erreicht. Dies könnte für die Signalauswertung auf neuronaler Ebene von Bedeutung sein.

Auch die potentielle Auswertung statischer Helligkeitsdifferenzen ist noch ohne größeren Aufwand möglich, wenn die Übertragungsfunktion höchstens ein quadratisches Glied aufweist.

Eine weitere, biologisch bedeutsame, Folgerung ergibt sich aus dem Verlauf der physiologischen Kennlinie: Bleibt die Reiz-Unterschieds-Schwelle konstant, dann wächst die Empfindlichkeit für Schwellenreize mit zunehmender Intensität bis zu einer bestimmten Beleuchtungsstärke; für die biologischen Objekte bedeutet dies, daß sie mit zunehmender Helligkeit geringere Kontraste wahrnehmen könnten.

Allerdings muß eingeschränkt werden, daß sich obige Aussagen auf Rezeptorebene beziehen. Möglicherweise sind eine größere Signaltreue und zunehmende Kontrastempfindlichkeit ohne Bedeutung für die Signalverarbeitung in den wahrnehmenden Zentren. Dann wäre die gemessene Linearisierung für modulierte Reize ein äußerst günstiger "Zufall", der die Genauigkeit bei System-Untersuchungen mit komplexen Sinusreizen entscheidend erhöht.

5.5 Modell-Betrachtungen zu den Kennlinien

In diesem Kapitel wird der Versuch unternommen, anhand von spekulativen Denkmodellen mögliche Mechanismen für die gemessene Linearisierung aufzuzeigen. Die dabei zugrunde gelegten Vorstellungen über die Funktion des Photorezeptors werden durch ein Modell zur Rechteck-Kennlinie erläutert.

Zur formalen Darstellung der sigmoiden Rechteck-Kennlinie wird häufig eine von /Naka und Rushton, 1966 a,b/ beschriebene Gleichung verwendet; sie lautet:

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{Q^n}{Q^n + C^n} \quad (5.5.1) ,$$

wobei $V/V_{\max}$ die auf das Maximum normierte Potential-Antwort bei einer Reizstärke Q ist. C bezeichnet eine Konstante und n einen Parameter, der die Steigung im logarithmischen Teil der Kennlinie modifiziert.

Durch Gleichung (5.5.1) werden die gemessenen Rechteck-Kennlinien bei geeigneter Wahl der Parameter gut dargestellt. Dies zeigen sowohl Arbeiten an Vertebraten ((Baylor und Fuortes, 1970 (Schildkröten); Dowling und Ripps, 1971 (Rochen)) als auch an Evertrebraten ((Eguchi, Horikoshi, 1984 (Schmetterlinge)).

Dennoch ist die Anwendung von Formel (5.5.1) unbefriedigend, da sie zwar empirisch-mathematisch die Reiz-Antwort-Beziehung beschreibt, aber darüber hinaus keine Information über die Art der Potential-Entstehung enthält. Ein Bezug zu einer Modell-Vorstellung fehlt.

Dagegen hat /Dörrscheidt-Käfer, 1972/ versucht, den Verlauf der Kennlinie modellmäßig zu erklären. Die Autorin ging davon aus, daß das Antwort-Potential von der Konzentration aller Farbstoffe abhängt, die bei der Umwandlung von Rhodopsin bis zum Metarhodopsin I entstehen. Aufgrund der Überlegungen von Dörrscheidt-Käfer läuft die Konzentrationskurve dieser Folgefarbstoffe bei höheren Intensitäten in die Sättigung.

Eine befriedigende quantitative Übereinstimmung dieses Modells mit den experimentellen Befunden konnte allerdings nicht erreicht werden. Jedoch fand die Autorin (empirisch?), daß sich der untere Kennlinien-Bereich (linearer und logarithmischer Teil) gut durch den Zusammenhang

$$\frac{V}{V_{\max}} = a \cdot \log\left(1 + \frac{Q}{Q_0}\right) \quad (5.5.2)$$

nähern läßt. Dabei sind a und Q_0 variable Parameter, die sich aus der Kennlinienkurve ermitteln lassen.

Ob die Formel (5.5.2) über die mathematische Beschreibung hinaus auch durch Systemeigenschaften begründet ist, bleibt in jener Arbeit ungeklärt.

Deshalb wird hier nachfolgend der Versuch unternommen, einen mathematischen Zusammenhang zwischen Reiz und Antwort herzuleiten, der zwei Bedingungen erfüllt:

Er soll erstens wie Formel (5.5.1) oder (für einen Bereich) Formel (5.5.2) die Kennlinie darstellen. Darüberhinaus soll er aber auch auf Modell-Vorstellungen zur Physiologie des Sehprozesses begründet sein.

Als Grundlage für die folgenden Überlegungen dient eine Arbeit von /Payne und Howard, 1981/. Diese Autoren beschreiben ein einfaches Modell, welches für die Wanderheuschrecke die "Impuls"-Antworten ihrer Photorezeptoren auf schwache Blitze sehr gut nähert. Payne und Howard nehmen u. a. an, daß die Absorption eines Lichtquants durch ein Rhodopsin-Molekül einen chemischen Transmitter freisetzt. Dieser Transmitter öffnet die Membran-Poren, wenn er eine bestimmte, Poren-abhängige Schwellenkonzentration überschreitet.

Zu ähnlichen Überlegungen kamen schon früher /Hamdorf und Kirschfeld, 1980/ bei ihren Untersuchungen an den Photorezeptoren von Fliegen. Diese Autoren vermuteten ebenfalls, daß nach der Quantenabsorption enzymatisch eine Transmitter-Substanz erzeugt wird, die dann die Membranerregung initiiert.

In letzter Zeit wird als Transmitter ein Eiweißkörper vermutet. Er wird als G-Protein bezeichnet (Emeis et al., 1982).

Das Vorhandensein eines lichtinduzierten Transmitters soll deshalb die erste Annahme für das hier vorgeschlagene Modell bilden.

Weiterhin wird davon ausgegangen, daß der Zusammenhang zwischen der erzeugten Transmittersubstanz und einem inkrementalen kurzen Lichtreiz linear abhängig von der Reizintensität ist, solange die Beleuchtungsstärke nicht zu groß wird. Dies wird wie folgt begründet:

Der erste Schritt der Reaktion, nämlich die Absorption von wirk-samen Quanten durch eine Anzahl von Rhodopsinmolekülen, ist ein zur Intensität proportionaler Prozess, solange die anregbare Rhodopsin-konzentration annähernd konstant bleibt. Diese Bedingung ist im li-nearen und logarithmischen Teil der Kennlinie ausreichend erfüllt; /Dörrscheidt-Käfer, 1972/ zeigte, daß die Reiz-Antwort-Beziehung schon dann den logarithmischen Zusammenhang verläßt, wenn erst ca. 10^{-3} der vorhandenen Rhodopsine pro Rezeptor und Reiz¹⁾ durch Quanten getroffen werden.

Im zweiten Schritt setzen die angeregten Rhodopsine durch die Umwandlung in Folge-Farbstoffe enzymatisch eine Transmittersubstanz frei. Ihre Konzentration soll proportional zur Anzahl der erregten Rhodopsine sein. Folglich ist die Transmittersubstanz auch linear von der Intensität abhängig und wächst mit zunehmender Reizstärke an. Es soll jedoch angenommen werden, daß die Erzeugungsrate aus Stoffwechselgründen nicht beliebig zunehmen kann. Deshalb wird ein Grenzwert T_G definiert, der die maximale pro Zeiteinheit erzeugbare Transmittersubstanz beschreibt. Auch bei Lichtblitzen, die zuneh-mend stärker als die zu T_G gehörige Intensität Q_G sind, tritt kein Anwachsen der pro Reizdauer erzeugten Transmittersubstanz mehr auf.

In diesem Zusammenhang ist die Beobachtung interessant, daß die Rechteckkennlinie von C.e.C. ungefähr bei derjenigen Anzahl wirk-samer Quantentreffer in die Sättigungsphase geht, die mit der An-zahl der Mikrovilli in der Rhabdomer-Struktur zusammenfällt (Dörr-scheidt-Käfer, 1972).

Auch /Hamdorf und Kirschfeld, 1980/ bezeichnen die Mikrovilli

1) Die Reizdauer betrug 0.6 ms.

als funktionelle Einheiten, die Transmitter-Moleküle erzeugen könnten. Folglich treten Sättigungseffekte dann auf, wenn im Mittel pro Mikrovilli ein Lichtquant absorbiert wird.

Die freigesetzte Transmitter-Substanz soll im nächsten Schritt auf die Zellmembran wirken und dort Ionen-selektive Poren öffnen. In erster Näherung wird davon ausgegangen, daß die Anzahl der geöffneten Poren eine proportionale elektrische Antwort verursacht.

Dies ist die dritte Hypothese, die den nachfolgenden Überlegungen zugrunde gelegt wird.

Die drei Annahmen sollen noch einmal zusammengefaßt werden:

- 1) Licht induziert im Photorezeptor nach der Absorption durch Rhodopsin eine Transmitter-Substanz
- 2) Die Konzentration dieser Substanz ist proportional zur Reizstärke, solange sie nicht einen Grenzwert übersteigt. Der Grenzwert wird dadurch gegeben, daß aus Stoffwechselgründen eine maximale Erzeugungsrate des Transmitters existiert.
- 3) Der Transmitter wirkt auf die Zellmembran und öffnet Poren. Deren Anzahl erzeugt eine dazu proportionale elektrische Erregung.

Aufgrund dieser Modellvorstellungen läßt sich für den Zusammenhang zwischen Lichtreiz und elektrischer Antwort formal folgende Differentialgleichung aufstellen:

$$\begin{aligned} dA &= \frac{dA}{dP} \cdot \frac{dP}{dT} \cdot \frac{dT}{dR} \cdot \frac{dR}{dQ} \cdot dQ = \\ &= F_1 \cdot F_2 \cdot F_3 \cdot F_4 \cdot dQ \end{aligned} \tag{5.5.3}$$

wobei: A: elektrischen Antwort

P: Anzahl der offenen Poren

T: Anzahl der wirksamen Transmitter-Einheiten

Q: Reizquantenzahl

R: Anzahl der durch Quanten getroffenen Rhodopsinmoleküle

Um diese Gleichung integrieren zu können, muß man die Faktoren F1 bis F4 auf ihre Abhängigkeit von der Intensität Q überprüfen.

Der Faktor F4 beschreibt den differentiellen Zusammenhang zwischen den auftreffenden Quanten und den getroffenen Rhodopsinen. Er entspricht somit dem statistischen Gewicht für eine wirksame Quantenabsorption. Solange die Änderung der Rhodopsin-Konzentration vernachlässigt werden kann, ist er eine von der Intensität unabhängige Konstante.

Der Faktor F3 entspricht dem Prozess der Transmitter-Erzeugung durch angeregte Rhodopsine. Auch dieser Mechanismus wird, wie schon oben erwähnt, als annähernd konstant angesehen, solange eine Grenzhelligkeit Q_G deutlich höher liegt. In der Nähe von Q_G geht der Faktor F3 gegen Null; aus Stoffwechselgründen kann nur eine beschränkte Transmittermenge erzeugt werden.

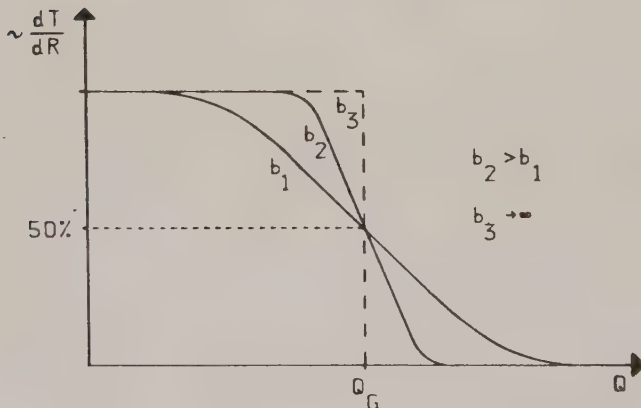


Abb. 5.5.1: Angenommener funktioneller Zusammenhang zwischen der erzeugten, auf die angeregten Rhodopsine bezogenen Transmittersubstanz dT/dR und der Intensität Q ;
 Q_G und b_i : siehe Formel 5.5.4 ;

Der angenommene Verlauf von F_3 ist in Abb. 5.5.1 dargestellt. Formal läßt er sich z. B. durch eine Fermi-Dirac-Funktion beschreiben; sie lautet:

$$F_3 = \frac{dT}{dR} \sim \frac{1}{1 + e^{b \cdot (Q - Q_G)}} \quad (5.5.4)$$

Je nach Wahl von b wird der Abfall der Funktion modifiziert; Q_G bezeichnet in jedem Fall die 50%-Marke.

Der Faktor F_2 beschreibt die Wirkung des Transmitters auf die Poren. Er ist eine Funktion von der Intensität Q , wenn man annimmt, daß die Transmitter-Substanz nicht zwischen geschlossenen und geöffneten Poren unterscheiden kann. Dann ist ihre Wirkung davon abhängig, daß sie auf eine geschlossene Membranpore trifft, deren Anzahl eine Funktion der Beleuchtungsstärke Q ist. Um die Abhängigkeit von F_2 und Q zu bestimmen, dient folgende Überlegung:

Wird die Membran mit einer konstanten Lichtmenge erregt, befindet sich die Porenanzahl im Fließgleichgewicht; pro Zeiteinheit wird die Anzahl der offenen Poren P_O um einen Betrag abnehmen, der durch geschlossene Poren P_Z , die sich gerade öffnen, gedeckt wird. Die Summe der Poren ($P_O + P_Z$) ist dabei eine Konstante und entspricht der Maximalzahl der $P_{\max}$ offener oder geschlossener Poren.

Die Anzahl P_O (und damit auch P_Z) ist eine Funktion der Intensität Q ; bei $Q = 0$ muß $P_O = 0$, bei $Q \rightarrow \infty$ muß $P_O \rightarrow P_{\max}$ gelten.

Die zeitliche Änderung der offenen Poren P_O ist abhängig von der Zahl der offenen Poren P_O (denn nur sie können pro Zeiteinheit schließen), vermindert um die Zahl der Poren, die (in Abhängigkeit von Q) pro Zeiteinheit sich öffnen. Deshalb läßt sich schreiben:

$$\dot{P}_O \sim P_O - a \cdot P_Z \cdot Q \quad (5.5.5)$$

wobei $a \cdot P_Z \cdot Q$ für die von Q und P_Z abhängige Anzahl der Poren P'_Z steht, die sich pro Zeiteinheit öffnen. Der Proportionalitätsfaktor a ist ein Wichtungsfaktor, der die Wirksamkeit der Intensität Q auf die geschlossene Pore P_Z beschreibt. Im festen Adaptationszustand

ist er eine Konstante.

Mit dem Zusammenhang $P_o + P_z = P_{\max}$ und der Stationaritätsbedingung $\dot{P}_o = 0$ folgt aus 5.5.5:

$$0 = P_{\max} - P_z - P_z \cdot a \cdot Q$$

oder nach Umformung:

$$P_z = P_{\max} \cdot \frac{1}{1 + a \cdot Q} \quad (5.5.6)$$

Diese Gleichung erfüllt die gestellten Bedingungen:

Für $Q = 0$ folgt $P_z = P_{\max}$ und damit $P_o = 0$;

für $Q \rightarrow \infty$ folgt $P_z \rightarrow 0$ und damit $P_o \rightarrow P_{\max}$.

Eine Transmitter-Menge dT kann nur dann antworterzeugend wirken, wenn sie auf geschlossene Poren trifft. Für den Poren-abhängigen Faktor $\frac{dP}{dT}$ gilt somit:

$$F2 = \frac{dP}{dT} \sim P_z = P_{\max} \cdot \frac{1}{1 + a \cdot Q} \quad (5.5.7)$$

Damit ist der Faktor F2 in Gleichung (5.5.2) (bis auf einen Proportionalitätsfaktor) bestimmt.

Der Faktor F1 = $\frac{dA}{dP}$ beschreibt den Prozess der Umsetzung von sich öffnenden Poren in elektrisch meßbare Potentiale.

Eine Abhängigkeit vom Beleuchtungszustand Q der Membran kann hier nicht ausgeschlossen werden, wenn man die (teilweise noch ungeklärte) Komplexität der Zellmembran und der Umsetzung von Porenöffnung in elektrische Erregung bedenkt.

Für die hier durchgeführten Überlegungen wird jedoch von einem linearen Zusammenhang zwischen offenen Poren und elektrischem Potential ausgegangen (Annahme 3). Damit ist der Faktor F1 eine Konstante bezüglich der Intensität. Die "Rechtfertigung" für diese Annahme wird sich aus dem errechneten Reiz-Antwort-Zusammenhang er-

geben:

Wenn die analytischen Beschreibungen der Faktoren F4 bis F2 zutreffend sind, wird eine gute Übereinstimmung zwischen Modell-Vorstellung und experimentellen Befunden auch dann schon erreicht, wenn der Faktor F1 als eine von der Beleuchtungsstärke unabhängige Größe angesehen wird.

Das hier vorgestellte Modell wurde unter der Prämisse entwickelt, daß eine Minimal-Zahl von Anforderungen zu einer Gleichung führt, die die gemessenen Rechteckkennlinien in befriedigender Näherung beschreibt. Es erscheint mir jedoch wahrscheinlicher, daß die angenommene strikte Zuordnung von Intensitätsabhängigkeit und Intensitätskonstanz zu den verschiedenen Faktoren in Wirklichkeit nicht vorliegt. Unter diesem Gesichtspunkt ist das Modell als Näherung eines vielparametrischen Systems zu verstehen, bei dem jeweils nur ein Parameter für eine Eigenschaft in so hohem Maße zuständig ist, daß demgegenüber die Wirkung der anderen Systemparameter vernachlässigt werden kann.

Das Ergebnis der durchgeführten Näherung ergibt sich durch Einsetzen der Faktoren F1 bis F4 in Gleichung 5.5.2. Die von Q unabhängigen Konstanten wurden dabei zu einem Wert C zusammengefaßt:

$$dA = C \cdot \frac{1}{1 + a \cdot Q} \cdot \frac{1}{1 + e^{b \cdot (Q - Q_G)}} \cdot dQ \quad (5.5.8)$$

Für nicht zu große Q (noch keine Sättigungseffekte) ist der dritte Faktor ungefähr konstant und hat den Wert 1. Damit ist Gleichung 5.5.8 einfach integrierbar:

$$A = \frac{C}{a} \cdot \ln(1 + a \cdot Q) + C' \quad (5.5.9)$$

Die Integrationskonstante ergibt sich für $Q = 0$; sie entspricht dem Ruhepotential A_0 der Zelle.

Definiert man die auf einen Lichtreiz gemessene Spannungsdifferenz zu $V = A - A_0$ so folgt:

$$V \sim \ln(1 + a \cdot Q) \quad (5.5.10)$$

Diese Formel entspricht dem von /Dörrscheidt-Käfer, 1972/ gefundenen Zusammenhang (siehe Gleichung 5.5.2) und beschreibt damit (bei Anpassung der Parameter) den linearen und logarithmischen Teil der Kennlinie:

Für $a \cdot Q \ll 1$ läßt sich Gleichung 5.5.10 nähern durch die Beziehung $\ln(1 + x) \approx x$. Somit gilt:

$$V \sim a \cdot Q \quad \text{für } a \cdot Q \ll 1$$

Im unteren Bereich sind folglich erzeugtes Potential und erzeugende Intensität zueinander proportional, wie es die experimentellen Befunde zeigen.

Für $a \cdot Q \gg 1$ ergibt sich aus Gleichung 5.5.10:

$$V \sim \ln(a \cdot Q) \quad \text{für } a \cdot Q \gg 1$$

Dies entspricht dem logarithmischen Zusammenhang im mittleren Intensitätsbereich.

Die bei höheren Intensitäten auftretenden Sättigungseffekte werden durch den 3. Faktor in Gleichung 5.5.8 beschrieben. Modellrechnungen haben gezeigt, daß Gleichung 5.5.8 beliebige sigmoide Kurvenverläufe befriedigend annähert, wenn die Parameter entsprechend variiert werden. Die aus Modellvorstellungen abgeleitete Beziehung 5.5.8 ist somit eine mögliche Darstellung des Reiz-Antwort-Zusammenhanges, der bei Photorezeptoren auf festgehaltenem Adaptationsniveau mittels Rechteck-Reizen unterschiedlicher Intensität bestimmt wird.

Im folgenden soll nun darüber spekuliert werden, welche möglichen Mechanismen den logarithmischen Zusammenhang der statischen Kennlinie in einer dynamischen Reizsituation so verändern können, daß eine Linearisierung der Systemreaktion auftritt.

Ein potentieller Mechanismus könnte unter bestimmten Umständen

durch die Membranadaptation gegeben sein. Dies zeigt folgende Überlegung:

Nimmt die Erregbarkeit der Membran durch Adaptationseffekte um einen prozentualen, im adaptierten Zustand Antwort-unabhängigen Faktor ab, so läßt sich dies für die logarithmische Näherung ($a \cdot Q \gg 1$) durch zwei Kennlinienbilder in halblogarithmischer Darstellung beschreiben:

Die erste Beschreibungsart zeigt die Systemreaktion unter konstanten Adaptationsbedingungen auf unterschiedlich starke Testreize; zu jedem Adaptationsniveau gehört dabei eine Kennlinie, die mit zunehmender Adaptationslichtstärke zu höheren Intensitäten verschoben ist. Die Kennlinien sind untereinander parallel, und die Verschiebung ist proportional zu der durch das Adaptationslicht erzeugten Antwort.

Die zweite Beschreibungsart stellt die Systemreaktion unter Berücksichtigung des Adaptationseffektes dar; sie zeigt damit den Verlauf der durch Adaptationslicht erzeugten Antwort und ist im halblogarithmischen Bild eine flacher als das Kennlinienfeld verlaufende Gerade. Ein modulierte Signal, dem die Adaptation voll folgen kann, zeigt deshalb ebenso einen logarithmischen Reiz-Antwort-Zusammenhang, wie er auch ohne Adaptation gegeben ist. Allerdings wird die Antwortgröße (Steigung der Kennlinie) durch die Adaptationswirkung reduziert¹⁾.

Eine Linearisierung der Antwort kann jedoch eintreten, wenn die durch Adaptation bewirkte Empfindlichkeitsverminderung mit zunehmender Antwort abnimmt. Im Bild der parallelen Kennlinien werden diese (bei logarithmisch äquidistanten Adaptationsniveaus) zu höheren Intensitäten dichter. Die Adaptationskennlinie selbst wird (ähnlich der physiologischen Kennlinie) positiv gekrümmt und damit eine Linearisierung erreicht.

1) Dies erklärt den Anstieg im untersten Bereich des Amplituden-Frequenz-Ganges; mit zunehmender Frequenz wird die Adaptationswirkung schwächer und die Antwortgröße nimmt zu.

Wenn also eine solche Adaptations-Wirkung vorläge, könnte ein modulierte Signal gegenüber dem logarithmischen Zusammenhang entzerrt werden. Voraussetzung dafür ist, daß der Adaptations-Prozess genügend schnell, bzw. die Modulation genügend langsam erfolgt.

Eine Konsequenz dieses Denk-Modells ist, daß mit zunehmender Modulationsfrequenz (und damit abnehmender Adaptationswirkung) das Antwortsignal immer stärker logarithmisch verzerrt sein müßte. Dies widerspricht jedoch eigenen Feststellungen und den Beobachtungen von /Leutscher-Hazelhoff, 1973/. Deshalb muß unabhängig vom Vorhandensein einer potentiellen Adaptations-Linearisierung ein zweiter, in höherem Maße Frequenz-unabhängiger Linearisierungsmechanismus im Photorezeptor-System vorliegen.

Möglicherweise ist dieser Mechanismus durch die Reaktionskinetik der Transmitter-Substanz auf die Membran-Poren gegeben:

Nach den früher beschriebenen Modell-Vorstellungen wird durch Licht enzymatisch die Freisetzung eines biochemischen Transmitters initiiert, der durch vorübergehende Öffnung der Membran-Poren eine elektrische Potentialänderung erzeugt. Aus der Stationaritätsbedingung (bei konstanter Intensität müssen sich pro Zeiteinheit öffnende und schließende Poren das Gleichgewicht halten) wurde der Reiz-Antwort-Zusammenhang des konstant adaptierten Photorezeptors abgeleitet¹⁾. Nimmt man nun an, daß die lichtinduzierte Porenöffnung eine kleinere Zeitkonstante hat als die für die Porenschließung zuständige Reaktion, so tritt bei modulierten Reizen folgende Situation auf: Bei ansteigender Intensität (und damit wachsender Anzahl sich öffnender Poren) tritt wegen der geringeren Geschwindigkeit der Schließreaktion eine zunehmende Abweichung vom Gleichgewichtsfall auf; die durch die offenen Poren erzeugte Membranspannung wächst stärker als bei einem logarithmischen Zusammenhang an.

Dieses Denk-Modell zeigt also ebenfalls eine Möglichkeit der Kennlinien-Entzerrung. Im Vergleich mit der oben beschriebenen

1) Auch ein anfänglicher Peak der Rechteck-Antwort wird qualitativ erklärt, wenn man berücksichtigt, daß zu Reizbeginn alle Poren geschlossen und damit reaktionsbereit sind.

Adaptation laufen die Reaktionskinetiken schneller ab und können damit auch bei höheren Frequenzen wirksam sein.

Mit Betonung ihres spekulativen Charakters sollen obige Überlegungen abschließend noch einmal zusammengefaßt werden:

Die bei konstantem Adaptationsniveau mit Rechteckreizen ermittelte Kennlinie ist in einem mittleren Intensitätsbereich durch einen logarithmischen Zusammenhang darstellbar. Eine Antwort- (und damit auch Reiz-) unabhängige "Adaptation" reduziert die Reaktion um einen konstanten Faktor. Die dadurch erhaltene Systemantwort ist somit ebenfalls logarithmisch (aber mit geringerer Kennlinien-Steigung) vom Reiz abhängig. Nimmt die Adaptations-Wirkung jedoch mit zunehmender Intensität ab, so wächst die Steigung der Kennlinie des adaptierten Systems; ihr Verlauf ist deshalb positiv gekrümmt und ähnelt der physiologischen Kennlinie.

Eine potentielle Linearisierung durch Adaptationsmechanismen ist jedoch nur für langsame Modulationssignale möglich. Mit zunehmender Frequenz muß ein anderer linearisierender Mechanismus wirksam werden, der möglicherweise in einer unterschiedlichen Reaktionskinetik beim Öffnen bzw. Schließen der Membranporen begründet ist. Für einen dynamischen Reiz ist es vorstellbar, daß ein Ungleichgewicht zwischen den Raten der Poren-Öffnung und Poren-Schließung entsteht. Dies könnte zu einer Reaktions-Linearisierung gegenüber dem logarithmischen Reiz-Antwort-Zusammenhang führen, der sich im Gleichgewichts-Zustand (bei konstanter System-Adaptation) einstellt.

In diesem Zusammenhang soll jedoch noch einmal erwähnt werden, daß die Aussage "logarithmischer bzw. linearer Reiz-Antwort-Zusammenhang" nur eine Beschreibungsmöglichkeit für das Verhalten des Rezeptors darstellt. Sie sagt aus, wie die Übertragungsfunktion eines stationären Systems aussehen muß, um einen experimentell ermittelten Sachverhalt (z. B. Größe der Rechteckantwort zu einem festen Zeitpunkt) zu beschreiben. Die dynamischen Eigenschaften bleiben dabei unberücksichtigt. Sie modifizieren jedoch entscheidend die Phasenbeziehungen der Antwortanteile gegenüber den Verhältnissen im stationären Fall. Dies soll im nächsten Kapitel gezeigt werden.

5.6 Die Phasenlagen der Antwort-Anteile beim dynamischen Rezeptor

In den bisherigen Betrachtungen wurden die Übertragungseigenschaften des dynamischen Photorezeptors durch Kennlinien in stationärer Näherung beschrieben. Für viele Fälle (Antworthöhe, Antwortgröße, physiologische Linearisierung, Sättigungseffekte) ist diese Beschreibung ausreichend und die Systemdynamiken können vernachlässigt werden.

Für die Auswertung der später folgenden FIS-Messungen jedoch muß ein Effekt berücksichtigt werden, der hier als "dynamische Verzerrung des Ausgangssignals" bezeichnet werden soll.

Betrachtet man die Addition einer Grundschiwingung und der 2. Harmonischen unter Phasenlagen, die sich aus der Potenzreihen-Beschreibung der Kennlinie ergeben, so sind aufsteigender und absteigender Teil der Summenkurve immer spiegelsymmetrisch zueinander (siehe Abb. 2.4.3 a - c).

Für die Antworten der Photorezeptoren ist dies im allgemeinen nicht der Fall, obwohl sie gemäß den vorangegangenen experimentellen Befunden ebenfalls hauptsächlich nur aus 1. und 2. Harmonischer der Reizfrequenz bestehen. In Abb. 5.6.1 und 5.6.2 sind jeweils die Antworten von C.e. für modulierte Reize in zwei verschiedenen Auftragungen dargestellt:

Einmal sind sie im Vergleich mit dem Reiz im zeitlichen Ablauf aufgetragen, zum anderen in Reiz-Abhängigkeit als Lissajou-Figur; diese Darstellung zeigt also die "dynamische Kennlinie" des Systems in eingeschwungenem Zustand. Die Phasenlage von Reiz und Antwort wurde dabei so gewählt, daß die Differenz ihrer Amplitudenverläufe minimal wurde¹⁾. Damit liegen die Signale in zeitlicher Auftragung möglichst gut übereinander, und die Lissajou-Figur zeigt die geringste Hysterese. Diese Phasenverschiebung, die der Korrektur von einem Totzeitglied in der Systemkette entspricht, wurde deshalb durchgeführt, um Reiz und Antwort besser miteinander vergleichen zu können.

1) Aufgrund der digitalen Datenerfassung ist dies nur annähernd möglich.

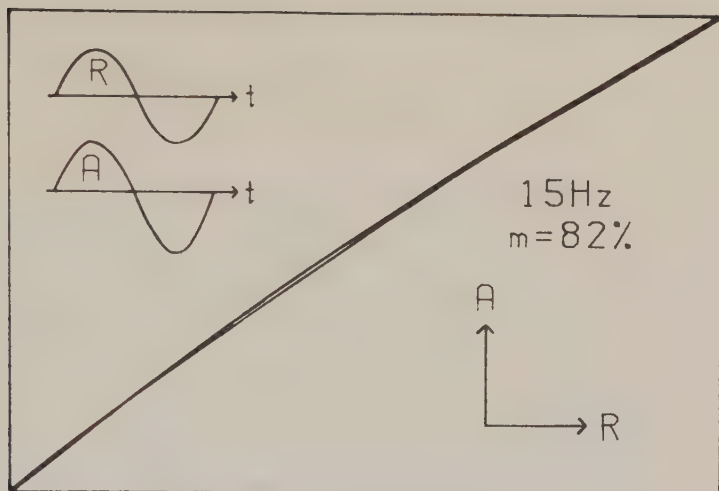


Abb. 5.6.1: Dynamik der Antwort auf einen sinusförmigen Modulationsreiz von 15 Hz bei *Calliphora erythrocephala* ;
R: Reiz ; A: Antwort ; t: Zeit ;

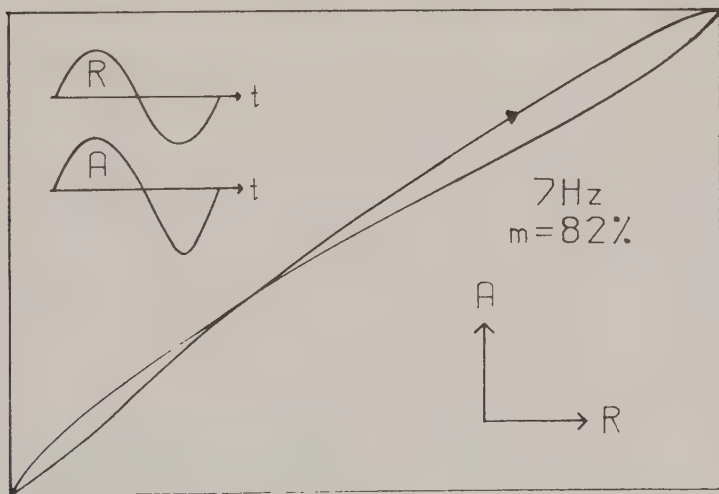


Abb. 5.6.2: Dynamik der Antwort auf einen sinusförmigen Modulationsreiz von 7 Hz bei *Calliphora erythrocephala* ;
R: Reiz ; A: Antwort ; t: Zeit ; $\bullet$: Zunehmende Reizintensität ;

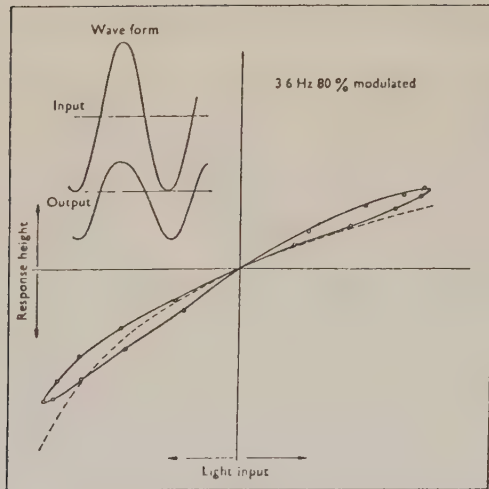


Abb. 5.6.3: Dynamik der Antwort auf einen sinusförmigen Modulationsreiz von 3.6 Hz bei *Calliphora erythrocephala* ; Gestrichelt: Logarithmischer Zusammenhang ; (aus Leutscher-Hazelhoff, 1975)

In Abb. 5.6.3 ist zusätzlich ein ähnliches Ergebnis von /Leutscher-Hazelhoff, 1975/ dargestellt. Beim Vergleich der Abbildungen sind die unterschiedlichen Reizfrequenzen zu beachten.

Aus den Darstellungen läßt sich erkennen, daß die Symmetrie des Antwortsignals, die unter stationären Bedingungen abgeleitet wurde, nicht mehr erhalten ist: Die mit zunehmender Intensität korrelierte Antwortkurve ist steiler als der abfallende Kurvenanteil. Diese Abhängigkeit von der Reizänderung ist zu erwarten, wenn man berücksichtigt, daß sich ein dynamisches System mathematisch erst durch eine Differentialgleichung darstellen läßt (Varju, 1977).

Um die beschriebene dynamisch verzerrte Antwort aus einer Addition von 1. und 2. Harmonischer zu erhalten, müssen diese Antwort-Anteile zum Zeitpunkt $t = 0$ im Gegensatz zum Fall des stationären Modell-Systems eine von 90° verschiedene Phasendifferenz aufweisen. Als Beispiel sei auf die Superposition einer Grund- und quadrati-

schen Oberschwingung in Abb. 2.4.4 verwiesen. Dort starten die beiden Schwingungen zum Zeitpunkt $t = 0$ gleichphasig.

Welche Phasenlagen die linearen und nichtlinearen Antwortanteile beim biologischen Objekt zueinander einnehmen, hängt von verschiedenen Parametern ab.

Einer dieser Parameter, die Frequenz-Abhängigkeit, ist in den Abb. 5.6.1 bis 5.6.3 angedeutet; während bei einer Reizfrequenz von 3.6 Hz eine starke dynamische Verzerrung vorhanden ist, verhält sich der Photorezeptor von C.e. bei 15 Hz annähernd so wie ein stationäres System¹⁾; die Kennlinie zeigt eine geringe Hysterese.

Wie weitere, hier nicht explizit aufgeführte Ergebnisse zeigen, scheinen je nach Tierart in Abhängigkeit von den Reiz-Gegebenheiten (z. B. Adaptationsniveau, Modulationsgrad) sehr unterschiedliche dynamische Verzerrungen aufzutreten. Auch Tier-spezifische Phasenunterschiede in einer Art können aufgrund der experimentellen Befunde nicht ausgeschlossen werden²⁾. In diesem Zusammenhang sei ein besonderer Sachverhalt bei P.a. erwähnt, dessen dynamische Verzerrung der modulierten Antwort eine ausgeprägte Abhängigkeit von den oben angesprochenen Parametern zeigt. Darüberhinaus tritt bei diesem Tier noch eine starke Frequenzabhängigkeit des mittleren Antwort-Potentials auf: Während die (als Spitze-Spitze-Differenz gemessene) Antwortgröße auf einen modulierten Reiz annähernd konstant bleibt, durchläuft ihr Mittelwert bei ca. 30 Hz ein Maximum. Dieser Verlauf, der für modulierte Reize keine Rolle spielt, deutet auf eine komplizierte Systemdynamik hin.

Insgesamt ergeben sich also komplexe Effekte und Zusammenhänge, die allgemeingültige Aussagen hinsichtlich der Phasenbeziehung von linearer und nichtlinearer Systemantwort noch nicht zulassen. Die für ein stationäres Modell-System ermittelten Befunde sind diesbe-

-
- 1) Der Amplituden-Frequenzgang hat ungefähr in diesem Bereich (zufällig?) sein Maximum.
 - 2) Sie könnten z. B. durch eine Abhängigkeit von Stoffwechsel-Mechanismen begründet sein.

züglich im allgemeinen nicht auf einen dynamischen Photorezeptor übertragbar.

Für die FIS-Messungen an biologischen Objekten bedeutet das, daß im Phasen-Frequenzgang die verschiedensten Differenzen zwischen Grundfrequenz-Bereich und den 1. Oberschwingungen auftreten können. Es wird sich jedoch zeigen, daß gerade dadurch die nichtlineare Phasen-Antwort unter Umständen zusätzliche Informationen über das Rezeptor-System liefern kann (siehe Kapitel 6.7).

mentellen Befunden bedürfen.

Die Untersuchung der Versuchstiere mit Einzelsinusreizen zeigt ein weiteres, bezüglich der FIS-Messungen relevantes Ergebnis: Im Falle eines stationären Modell-Systems stehen die Phasenlagen der 1. und 2. Harmonischen zueinander in einem festen Verhältnis. Im Falle des dynamischen Photorezeptors jedoch ist die Phasendifferenz zwischen Grund- und 1. Oberschwingung von verschiedenen Parametern abhängig. Eine quantitative, für die verschiedenen Versuchstiere "universell" gültige Beschreibung dieses Effektes ist (noch) nicht möglich. Bei den im nächsten Abschnitt dargestellten Phasen-Frequenz-Spektren, wird deshalb dem Verhältnis der Phasen von 1. und 2. Harmonischer keine Beachtung geschenkt.

6. FIS-Untersuchungen an biologischen Objekten

6.0 Einführung

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der FIS-Untersuchungen von biologischen Objekten umfassend analysiert. Dazu dienen die früher erarbeiteten methodischen Grundlagen.

Die FIS-Methode beruht auf der Fourier-analytischen Auswertung einer Systemantwort auf einen komplexen Sinusreiz. Die Fourier-Analyse selbst ist ein lineares Analyse-Verfahren. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß sich ein System mit quadratischer Kennlinie hinsichtlich der linearen Antwort nicht verzerrend verhält, wenn das auf die Nichtlinearität wirkende komplexe Signal nur Anteile einer Frequenzoktave umfasst.

Nach den Resultaten des letzten Kapitels sind die Antwort-Nichtlinearitäten der Versuchstiere im allgemeinen auf den quadratischen Fall beschränkt; dabei wurde von einem Modulationsgrad $m \approx 80\%$ ausgegangen, der auch für den FIS-Reiz (aus apparatetechnischen Gründen) zutrifft. Weiterhin werden die folgenden Ergebnisse zeigen, daß sich das Antwortspektrum der Photorezeptoren im Normalfall nicht über eine Frequenzoktave hinaus erstreckt. Damit sind beide Voraussetzungen gegeben, um die FIS-Methode erfolgreich zur Untersuchung der lichtempfindlichen Primärstrukturen biologischer Objekte einzusetzen.

Wie schon früher am Modellsystem gezeigt, liefert die FIS-Methode neben der SE noch zwei weitere Aussagen: Die nichtlineare Amplitudenantwort und die lineare bzw. nichtlineare Phasenantwort. Beide können sich als äußerst wirkungsvolle und wichtige Informationsträger bei der Aufklärung einer Systemstruktur erweisen, wie die folgenden Ergebnisse zeigen werden. Sie haben damit eine ähnliche Bedeutung wie die SE-Kurven, die aus der Fourier-analytisch ermittelten linearen Systemantwort gewonnen werden.

Die mit FIS bestimmten SE-Kurven zeichnen sich durch eine hohe Genauigkeit und Reproduzierbarkeit aus, die es ermöglicht, schon

5.7 Zusammenfassung: Einzelsinusreiz an biologischen Objekten

Eine Übertragungsfunktion, die in ihrer Potenzreihen-Entwicklung kubische (und eventuell höhere) Reihenglieder enthält, führt bei einem Sinusreiz zu einer Verzerrung, die es nicht mehr erlaubt, Fourier-analytisch einen linearen Reiz-Antwort-Zusammenhang zu ermitteln. Solch eine lineare Beziehung ist jedoch Voraussetzung für die Anwendung der FIS-Methode zur Ermittlung der SE.

Um abzuschätzen, welche Verzerrungen bei einem biologischen Objekt auftreten, werden seine nichtlinearen Übertragungseigenschaften zunächst mit Einzelsinusreizen festgestellt.

Diese Untersuchungen ergaben, daß bei einem Modulationsgrad bis ca. 80% und nicht zu hohen mittleren Intensitäten die kubischen Nichtlinearitäten vernachlässigt werden können. Die Verzerrungen bleiben somit auf quadratische Anteile beschränkt. Eine meßtechnisch ungünstige System-Linearisierung (z. B. durch Modulationsgrad-Erniedrigung, Absenkung des mittleren Reizniveaus oder numerische bzw. elektronische Entzerrung) kann folglich beim biologischen Objekt unter obigen Voraussetzungen unterbleiben.

Die Reaktion der Photorezeptoren auf Rechteckreizung unterschiedlicher Stärke bei konstantem Adaptationsniveau zeigt in einem mittleren Intensitätsbereich eine logarithmische Abhängigkeit vom Stimulus. Aufgrund der dynamischen, adaptiven Rezeptoreigenschaften ergibt sich für modulierte Reize jedoch ein linearerer Reiz-Antwort-Zusammenhang. Da modulierte Reize um ein mittleres Intensitätsniveau große Ähnlichkeit mit physiologischen Reiz-Situationen haben, wird dieser Entzerrungseffekt als physiologische Linearisierung bezeichnet.

Die Nichtlinearitäten nehmen beim modulierten Reiz mit höherer mittlerer Intensität zu. Mit dem Auftreten störender kubischer Verzerrungen ist jedoch eine beginnende Reduktion der Antwortgröße korreliert (bei einem Modulationsgrad von ca. 80%). Es ist also nicht nur wegen der quadratischen Beschränkung, sondern auch aufgrund der Systemreaktion meßtechnisch günstig, das mittlere Reizniveau nicht zu hoch zu wählen. Außer bei der Augenmutante C.e.C. wird die mit

spürbarer kubischer Verzerrung korrelierte Intensität bei den untersuchten biologischen Objekten unter einem Sommertag entsprechenden Beleuchtungsbedingungen noch nicht oder gerade erst erreicht.

Die Rechteckkennlinie eignet sich nicht als Übertragungsfunktion für modulierte Reize, da Systemdynamiken und adaptive Prozesse nicht erfaßt werden. Zur Beschreibung der Antwortgröße dient die als physiologische Kennlinie bezeichnete Übertragungsfunktion, die sich (wie früher abgeleitet) aus dem Integral der Modulationskennlinie¹⁾ in halblogarithmischer Darstellung ergibt. Der gemessene Verlauf der physiologischen Kennlinie zeigt neben der linearen Antwortgröße auch die Abhängigkeit der Verzerrung von der Intensität. Ob dieser Zusammenhang quantitativ (wie im Falle der stationären Näherung) oder nur qualitativ gültig ist, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Es ist theoretisch denkbar, daß die nichtlinearen Antworten des dynamischen, adaptiven Systems quantitativ nicht durch die physiologische Kennlinie beschrieben werden.

Dabei ist auch von Bedeutung, daß die physiologische Kennlinie bei einem biologischen Objekt streng nur für eine Modulationsfrequenz gültig ist. Jedoch zeigen die experimentellen Befunde bei C.e., daß mindestens im Frequenzbereich des FIS-Reizes die physiologische Linearisierung zutrifft, und der Verlauf der physiologischen Kennlinie sich nur unwesentlich ändert. Nimmt man eine frequenzmäßig umfassendere Gültigkeit der Linearisierung an, so könnte dieser Sachverhalt von biologischer Relevanz sein: Für nicht zu starke Reize um ein mittleres Intensitätsniveau wird dadurch die Signal-treue erhöht.

Als Ursachen für die experimentell ermittelte Antwort-Linearisierung erscheinen Adaptationseffekte (für langsame) und dynamische, biochemische Membran-Prozesse (für schnelle Reize) denkbar. Dies sind jedoch nur Hypothesen, die einer Überprüfung mit experi-

1) Als Modulationskennlinie wurde die Intensitäts-Abhängigkeit der linearen Antwortgröße auf sinusförmige Reize konstanten Modulationsgrades bezeichnet.

geringe Abweichungen als artifiziell oder als biologisch relevant anzusehen. Mittels chromatischer Adaptation und Computer-unterstützter Auswertung ist es deshalb möglich, schon aus ERG-Messungen Aussagen zu gewinnen, die bisher nur durch kompliziertere, intrazelluläre Untersuchungen möglich waren. Wie die in späteren Kapiteln vorgestellten Ergebnisse zeigen, kann mit einfachen extrazellulären Ableitungen ein komplexes Sehsystem in einzelne Rezeptor-Strukturen zerlegt werden.

Die Gründe für die höhere Effektivität der FIS-Methode gegenüber herkömmlichen Verfahren zur Bestimmung der SE sind zum einen durch die Vorteile der Fourierspektroskopie gegeben. Diese sind teilweise im Kapitel 4.1 angedeutet; in /Gemperlein, 1982/ sind sie zusammengefaßt.

Zum zweiten bietet FIS dem Versuchsobjekt einen im zeitlichen Mittel konstanten Reiz hinsichtlich Intensität und spektralen Gehalts. Das biologische Objekt befindet sich damit auf einem konstanten Adaptationsniveau und in definiertem biochemischen Zustand.

Als dritter bedeutender Punkt kommt noch eine große Stabilität der FIS-Messungen gegenüber Systemschwankungen hinzu, die bei den herkömmlichen Verfahren leicht zu spürbaren Meßfehlern führen können. Dieser entscheidende Vorteil soll im nächsten Kapitel erläutert werden.

6.1 Die Bestimmung der SE bei biologischen Objekten durch FIS und durch herkömmliche Methoden

Zur Beschreibung der spektralen Antwortabhängigkeit eines Rezeptors mit einem oder mehreren Photopigmenten verwendet man den Reiz- Antwort-Zusammenhang bei unterschiedlichen Reizlichtwellenlängen. Bei der Messung mit quantengleichen Stimuli verschiedener Farbe erhält man so die spektrale Wirksamkeitskurve; sie ist definiert als die wellenlängenabhängige Antworthöhe auf quantengleiche Reizlichter.

Die spektrale Wirksamkeitskurve ist im Fall einer nichtlinearen Reiz-Antwort-Beziehung vom gewählten Reizniveau abhängig (Autrum et al., 1961; Autrum, v. Zwehl, 1964; Prehn, 1978) und deshalb nur beschränkt zur Beschreibung des Rezeptors geeignet. Eine sinnvollere Spektralabhängigkeit ergibt sich, wenn man diejenigen monochromatischen Stimuli betrachtet, die zu einer gleichen Systemreaktion führen. Dies soll im folgenden kurz erläutert werden:

Nach dem Univarianzprinzip (Naka und Rushton, 1966; Rushton, 1972) ist die Antwort des Photorezeptors nur eine Funktion der Zahl der absorbierten Quanten und nicht ihrer Energie. Das bedeutet, daß eine bestimmte absorbierte Quantenzahl zu einer zugeordneten (nichtlinearen) Antwort führt, unabhängig von der "Farbe" der Quanten vor der Absorption. Diese bestimmt jedoch spektral die Anzahl der absorbierten Quanten. Vom systemanalytischen Standpunkt aus kann man also zwei Untersysteme formulieren: Ein erstes beschreibt den (weitestgehend) linearen Absorptionsprozess und hat somit eine spektral abhängige Übertragungsfunktion, die durch eine Schar linearer Kennlinien mit spektral unterschiedlicher Steigung dargestellt werden kann. Eine steile Kennlinie bedeutet dabei eine große Absorptionswahrscheinlichkeit. Werden Quanten einer bestimmten Farbe nicht absorbiert, so verläuft die Kennlinie horizontal. Zu dieser Vorstellung äquivalent ist ein erstes Untersystem mit einem spektral abhängigen Verstärkungsfaktor $S(\lambda)$.

Das zweite Untersystem beschreibt die Umsetzung der absorbierten Quanten (unabhängig von ihrem Energieinhalt) in eine elektrische Antwort; für Rechteckreize wird dieser Zusammenhang qualitativ

durch die Rechteckkennlinie beschrieben.

Betrachtet man diese Untersysteme als eine Einheit, so müssen beide Übertragungsfunktionen multipliziert werden. Die Multiplikation der Rechteckkennlinie mit einem wellenlängenabhängigen Faktor führt in der halblogarithmischen Darstellung zu einer Parallelverschiebung der Funktion. Dies ist in Abb. 6.1.1 schematisch dargestellt; je weiter links eine Parallelkurve liegt, um so größer ist die zu dieser Wellenlänge gehörige Absorptionswahrscheinlichkeit des Photopigments.

Aus Abb. 6.1.1 erkennt man, daß das Verhältnis (= Differenz im halblogarithmischen Bild) der zu einer Antwort A gehörigen verschiedenen Quantenzahlen $Q_{R,\lambda}$ konstant bleibt und unabhängig von der Wahl der (für alle Wellenlängen gleichen) Antworthöhe ist.

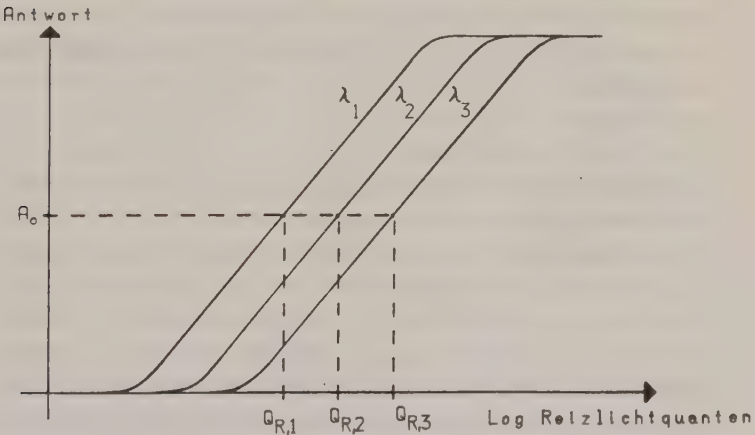


Abb. 6.1.1: Spektral abhängiges Kennlinienfeld eines Photorezeptors; Zur spektral konstanten Antwort A_0 des Systems führen $Q_{R,i}$ Quanten der Reizlichtwellenlänge λ_i ; Abszisse: Auf den Rezeptor treffende Reizlichtquanten ;

Wie oben erwähnt, ergibt sich bei Gültigkeit des Univarianzprinzipes aus einer in einem Spektralbereich konstanten Antwort A_0 eine spektral konstante absorbierte Quantenzahl $Q_{A,\lambda} = \text{const.}$ Sie hängt mit der eingestrahlten Reizlichtstärke $Q_{R,\lambda}$ wie folgt zusammen:

$$Q_{A,\lambda} = S(\lambda) \cdot Q_{R,\lambda} = \text{const.} \quad (6.1.1)$$

$S(\lambda)$ beschreibt dabei die Absorptionswahrscheinlichkeit. Unter der Bedingung der spektral konstanten Antwort ergibt sich aus 6.1.1:

$$S(\lambda) \sim \frac{1}{Q_{R,\lambda}} \quad (6.1.2)$$

Die auf 100% normierte Funktion $S(\lambda)$ wird nach /Autrum, v. Zwehl, 1964/ als relative spektrale Empfindlichkeitskurve¹⁾ bezeichnet.

Sie ist definiert als (normierter) Kehrwert der Reiz-Quantenzahlen, die zur gleichen Systemantwort bei verschiedenen Wellenlängen führen. Solange das Univarianzprinzip gilt, ist die relative SE unabhängig von der gewählten Antworthöhe. Die SE ist somit ein sinnvolles Maß zur Beschreibung eines Photopigmentes und proportional zu dessen spektraler Absorptionswahrscheinlichkeit, solange nicht-lineare Effekte (wie z. B. Selbstabschirmung) im Absorptionsprozess vernachlässigt werden können.

Zur objektiven Bestimmung der SE existieren nach meiner Kenntnis zur Zeit in der Elektrophysiologie drei prinzipielle Methoden:

- a) Die SE-Bestimmung mittels Rechteck-Reizen,
- b) Die SE-Bestimmung mittels Variation des Reizlichtquantenflusses, und
- c) Die SE-Bestimmung mittels Fourier-interferometrischer Stimulation.

Die Verfahren a) und b) sollen im folgenden kurz skizziert und anschließend mit FIS verglichen werden:

- a) Bestimmung der SE mittels Rechteckreizen

Diese Methode ist das "klassische" Meßverfahren. Es wurde maßgeblich von Autrum mitbegründet (Autrum, Burkhardt, 1960). Im Prinzip wird dabei die Antworthöhe in Abhängigkeit von der Intensität der

1) Sie wird in dieser Arbeit mit SE abgekürzt.

Rechteckreize für verschiedene Wellenlängen bestimmt. Aus diesem Kennlinienfeld werden anschließend die zur gleichen Antwort gehörigen Quantenzahlen und damit die SE ermittelt.

Da jedoch die Kennlinien untereinander parallel sind, ist es in der Praxis ausreichend, aus der Kenntnis von nur einer Kennlinie die SE zu bestimmen. Dazu ermittelt man für die verschiedenen Wellenlängen die Antworthöhen auf bekannte Quantenzahlen. Die Kennlinie wird dann in der halblogarithmischen Dargestellung so verschoben, daß sie dem gemessenen spektralen Reiz-Antwort-Zusammenhang genügt und damit eine Umrechnung der Quantenzahlen auf eine konstante Antwort ermöglicht.

Die Güte dieses Verfahrens hängt vor allem von der Stabilität der Kennlinie ab. Erschwerend kommt hinzu, daß schon kleine Variationen in der Antwort wegen des logarithmischen Zusammenhanges zu einem großen Fehler in der Bestimmung der Quantenzahlen führen. Dies ist z. B. bei /Kabiersch, 1980/ beschrieben.

b) Bestimmung der SE durch Variation des Reizlicht-Quantenflusses

In einem von /Franceschini, 1979/ vorgeschlagenen Verfahren wird eine nachträgliche Korrektur auf Antwort-gleiche Quantenzahlen mittels der Kennlinien vermieden. Bei dieser Methode wird für die unterschiedlichen Wellenlängen die Reizlichtstärke durch eine gesteuerte Graukeilverschiebung so eingestellt, daß eine spektral konstante Systemantwort erhalten wird. Die Stellung des Graukeils ist dabei ein Maß für den Quantenfluß und dient als Berechnungsgrundlage für die SE. Auch dieses Verfahren ist jedoch von der Kennlinie abhängig und führt somit bei sich während der Messung ändernder Übertragungsfunktion zu einem fehlerhaften Ergebnis.

c) Bestimmung der SE mittels FIS

Die Methode der Fourier-interferometrischen Stimulation wurde schon in Kapitel 4.1 beschrieben. Der bei FIS verwendete Stimulus besteht qualitativ aus allen Spektralanteilen des Reizlichtes. Diese Spek-

tralkomponenten werden während der Reizdauer um ein mittleres Intensitätsniveau moduliert. Da nach dem Univarianzprinzip nur die absorbierten Quanten, und nicht deren Wellenlänge bzw. Energie die Antwort des Rezeptorsystems bestimmen, fallen alle Kennlinien aus Abb. 6.1.1 zusammen, falls auf der Abszisse die absorbierten Quanten aufgetragen werden. Die im Mittel aus dem polychromatischen Reiz absorbierten Quanten Q_A bestimmen dann den Arbeitspunkt P auf der Kennlinie, um den der durch die Absorption des Photorezeptors modifizierte FIS-Reiz moduliert wird (siehe Abb. 6.1.2).

Im oben angesprochenen systemanalytischen Modell stellt Abb. 6.1.2 die Übertragungseigenschaften des 2. Untersystems dar; dort erzeugen absorbierte Quanten die elektrische Systemreaktion. Unabhängig von ihrer Energie bewirkt eine inkrementelle Quantenzahl dQ_A eine wellenlängenunabhängige Änderung der Systemantwort dA_A . Dies ist ebenfalls in Abb. 6.1.2 dargestellt.

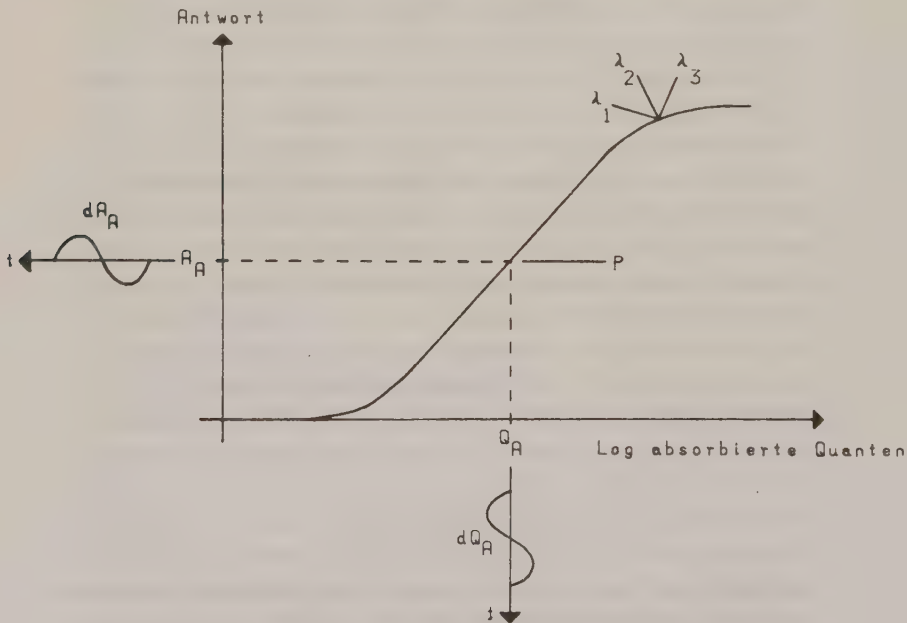


Abb. 6.1.2: Kennlinienfeld eines Photorezeptors;
Die FIS-Modulation dQ_A um den Arbeitspunkt P führt zur Antwort dA_A ;
Abszisse: Vom Rezeptor absorbierte Reizlichtquanten ;

Im Falle einer höchstens quadratischen Kennlinie, wie sie für ein biologisches Objekt angenommen wird, sind lineare Antwort $dA_{A,\lambda}$ und Reiz $dQ_{A,\lambda}$ zueinander proportional; es gilt:

$$dA_{A,\lambda} = \eta \cdot dQ_{A,\lambda} \quad (6.1.3) \quad ,$$

wobei η die Steigung der Kennlinie im Arbeitspunkt P angibt. Sie ist für alle Wellenlängen des polychromatischen Reizes gleich groß. Die spektral absorbierten Quanten jedoch sind eine Funktion der Wellenlänge, da nach (6.1.1) gilt:

$$dQ_{A,\lambda} = S(\lambda) \cdot dQ_{R,\lambda} \quad (6.1.4)$$

Die spektrale Empfindlichkeit $S(\lambda)$ bestimmt sich aus Gleichung 6.1.4 unter Berücksichtigung von Gleichung 6.1.3 zu:

$$S(\lambda) = \frac{dQ_{A,\lambda}}{dQ_{R,\lambda}} \sim \frac{dA_{A,\lambda}}{dQ_{R,\lambda}} \quad \text{oder}$$
$$\frac{S(\lambda)}{S(\lambda)_{\max}} \cdot 100\% = \frac{dA_{A,\lambda}}{dQ_{R,\lambda}} \quad (6.1.5)$$

Bei der FIS-Methode wird in Abhängigkeit von der Wellenlänge eine Antwort $dA_{A,\lambda}$ auf einen Reiz $dQ_{R,\lambda}$ bestimmt. Nach Gleichung 6.1.5 ergibt eine Division und Normierung dieser beiden Größen direkt die SE. Eine quantitative Kenntnis der Kennlinie ist deshalb nicht nötig. Dies ist ein großer Vorteil gegenüber den anderen Untersuchungsverfahren.

Berücksichtigt man noch die polychromatische Reizform, so bedeutet dies eine außergewöhnliche Stabilität von FIS gegenüber Schwankungen in den Versuchsbedingungen. Eine Verschiebung des Arbeitspunktes auf der Kennlinie betrifft alle spektralen Reizkomponenten in gleichem Maße und führt somit zu einer Amplitudenänderung aller spektralen Antwortanteile. Zur Bestimmung der normierten SE jedoch sind die Absolutwerte der Amplituden nicht relevant.

Das Versuchsobjekt kann die System-Übertragungsfunktion des Photorezeptors hauptsächlich durch eine Parallelverschiebung oder durch eine Steigungsänderung der Kennlinie modifizieren. Ursache dafür können Adaptations- bzw. Alterungseffekte sein. Beide Effekte führen bei den herkömmlichen Meßmethoden zu einer fehlerhaften Bestimmung der SE.

Bei FIS dagegen wirkt sich eine Parallelverschiebung der Kennlinie nicht aus, da dadurch zwar die Höhe des Antwort-Mittelwertes (DC-Anteil), nicht aber die Antwortgröße der Modulation verändert wird; nur diese benötigt man jedoch zur Berechnung der SE.

Eine Steigungsänderung der Kennlinie ist äquivalent zu einer Verstärkungsänderung des Systems. Wirkt sie zwischen den einzelnen Meßläufen, so modifiziert sie alle spektralen Reiz-Komponenten gleichzeitig und in gleicher Weise, und ist daher prinzipiell wegen der Normierung der Daten ohne Interesse. Wirkt sie dagegen während eines Meßlaufes, so kann man dies als Multiplikation des ungestörten Datensatzes mit einer sich zeitlich ändernden "Störungs"-Funktion auffassen. Diese Betrachtung ist äquivalent zur Multiplikation des Datensatzes mit einer Fensterfunktion im Zeitbereich. Ihr entspricht im Frequenzbereich eine Faltung, die bei nicht zu pathologischer Fenster-Funktion die berechneten Frequenzpunkte nur geringfügig verändert. Zum Beispiel zeigen Computersimulationen mit 10 Spektralelementen, daß das Frequenzspektrum amplitudenmäßig im Prozent-Bereich erhalten bleibt, wenn das Untersuchungssystem seine Verstärkung während der Messung ein oder mehrere Male im Verhältnis 1:2 ändert. Solche oder ähnliche Änderungen würden jedoch aufgrund des logarithmischen Reiz-Antwort-Zusammenhanges bei den anderen Meßmethoden zu inakzeptablen Fehlern in der SE-Bestimmung führen.

Aufgrund der obigen Überlegungen ist eine hohe Reproduzierbarkeit der FIS-Messungen an biologischen Objekten zu erwarten. Dies wird durch Abb. 6.1.3 bestätigt. Hier sind beispielhaft 8 Frequenzspektren übereinander gezeichnet, die Fourier-analytisch aus Einzelantworten! des Kohlweißlings P.b. im Abstand von jeweils ca. 10 Minuten ermittelt wurden. Jede Messung selbst dauerte ca. 7 sec. Insgesamt fallen die einzelnen Meßkurven gut zusammen. Die ver-

bleibenden Schwankungen erscheinen nicht mit der Versuchsdauer korreliert.

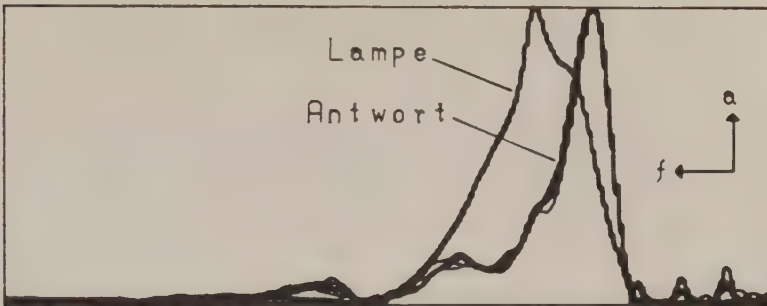


Abb. 6.1.3: Mit FIS-Einzelreizen ermittelte Rohkurve des Schmetterlings *Pieris brassicae*;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ; Lampe: Spektralverteilung des Reizes ; Antwort: Spektrale Reaktion des Schmetterlings ;
Eine Messung dauerte ca. 7 sec.

Die Auftragung der FIS-Reizfrequenzen ist linear (Ursprung: Rechter Eckpunkt); die zugeordnete (nichtlineare) Wellenlängenskala verläuft in umgekehrter Richtung ;

Zusammenfassend kann also folgendes festgehalten werden:

Zur elektrophysiologischen Bestimmung der SE gibt es verschiedene Methoden. Sie sind gegenüber Instabilitäten des biologischen Systems unterschiedlich anfällig.

Die herkömmlichen Methoden sind vor allem von der Stabilität der System-Übertragungsfunktion abhängig, da diese direkt in die Bestimmung der SE-Werte eingeht. Durch den logarithmischen Reiz-Antwort-Zusammenhang führen zusätzlich schon geringe Antwortmodifikationen zu relativ großen Fehlern bei der Ermittlung der Reiz-Quantenzahlen.

Die FIS-Methode dagegen ist wesentlich stabiler gegen Schwankungen in der Übertragungsfunktion. Da mit allen Spektralelementen gleichzeitig gereizt wird, wirken sich Kennlinienänderungen immer auf alle Antwortkomponenten aus. Unter diesem Gesichtspunkt ist die normierte Antwortgröße unabhängig vom aktuellen Reiz-Antwort-Zusammenhang und spiegelt nur die Absorptionseigenschaften des Rezeptors wider. Indirekt jedoch können sich Modifi-

kationen der System-Kennlinie auch auf das FIS-Ergebnis auswirken, da eine zeitliche Veränderung der Übertragungsfunktion während der Messung das Fourier-analytisch ermittelte Ergebnis im Frequenzbereich "verschmiert". Der dadurch erzeugte Fehler bleibt allerdings vernachlässigbar im Vergleich zu seiner Auswirkung bei herkömmlichen Methoden.

Neben der großen Stabilität gegenüber Änderungen der Übertragungsfunktion des biologischen Systems gelten für FIS zusätzlich noch ein linearer Reiz-Antwort-Zusammenhang (nur unter dieser Voraussetzung ist die Fourier-Analyse anwendbar) und die methodischen Vorteile der Fourier-Spektroskopie. Deshalb zeigen die Ergebnisse eine ausgezeichnete Genauigkeit und Reproduzierbarkeit.

Die hohe Güte der FIS-Resultate ermöglicht es, bei geeigneter Auswertung von einfachen extrazellulären Untersuchungen umfassende Aussagen über ein Rezeptorsystem zu erhalten. Dies werden die Ergebnisse im nächsten Kapitel zeigen.

6.2 FIS-Untersuchungen zur SE der Schmetterlinge *Aglais urticae* und *Pararge aegeria*; Methoden zur Analyse der Summen-Empfindlichkeit

In diesem Kapitel soll am Beispiel zweier Schmetterlinge gezeigt werden, welche Untersuchungsmethoden eingesetzt wurden, um die extrazellulär gewonnene SE komplexer Sehsysteme zu analysieren. Nichtlinearität und Phase vermitteln zusätzliche Aussagen, auf die in den Kapiteln 6.7 bis 6.9 eingegangen wird.

Die methodische Vorgehensweise zur Bestimmung der SE mittels FIS ist in den Kapiteln 4.1 und 6.1 ausführlich beschrieben.

In Abb. 6.2.1 ist die aus der Summenreaktion ermittelte SE des kleinen Fuchses A.u. abgebildet. Die ERG-Untersuchungen verschiedener Augenregionen von männlichen und weiblichen Versuchstieren brachten im Rahmen der Meßgenauigkeit qualitativ das in Abb. 6.2.1 dargestellte Ergebnis: Die SE-Kurve ist zweigipflig. Sie zeigt eine hohe, schmale Empfindlichkeit im UV bei ca. 365 nm und ein breiteres Maximum im Sichtbaren bei ca. 520 nm.

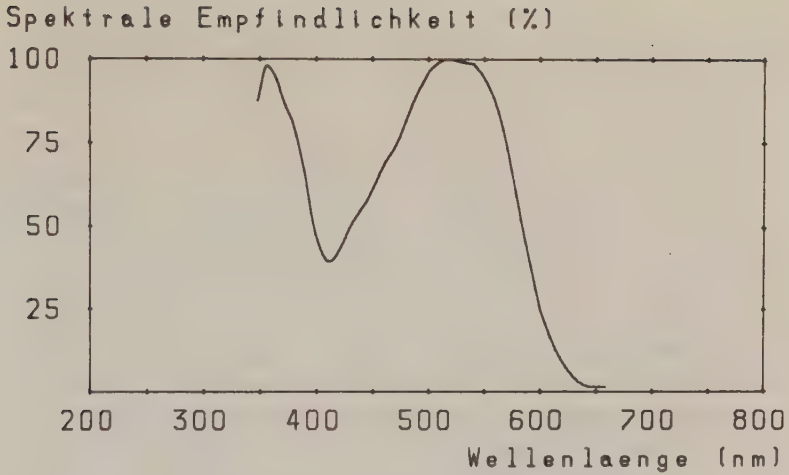


Abb. 6.2.1: Spektrale Empfindlichkeit von *Aglais urticae*;

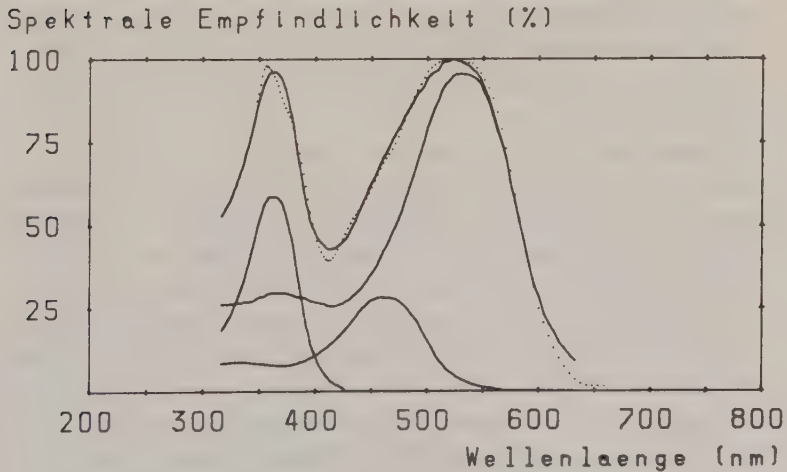


Abb. 6.2.2: Synthese der in Abb. 6.2.1 dargestellten Spektralen Empfindlichkeit;

Durchgezogen: Einzelrhodopsine und deren Summenkurve;
Gepunktet: Originalkurve nach Abb. 6.2.1 ;

Die SE-Kurve ergibt sich bei ERG-Messungen aus der Summenreaktion verschiedener Sehzellen. Unter der Annahme, daß als absorbierender Sehfärbstoff das von /Dartnall, 1953/ beschriebene Rhodopsin im Photosystem vorliegt, ist es möglich, die gemessene SE-Kurve aus Einzelrhodopsinen zu synthetisieren. Dartnall vermutete, daß die Kurvenform aller auf Vitamin A₁ basierender Sehpigmente unabhängig von der Lage ihrer maximalen Absorption im Spektralbereich erhalten bleibt, wenn sie über einer Frequenzskala aufgetragen werden (Dartnall - Nomogramm). /Greenberg, Honig, 1975 und Ebrey, Honig, 1977/ konnten jedoch zeigen, daß Abweichungen im kürzer- bzw. längerwelligen Spektralbereich auftreten, die die Konstanz der Rhodopsin-Kurven modifizieren; in Übereinstimmung mit experimentellen Befunden (z. B. Hamdorf et.al., 1971; UV-Pigment bei Ascalaphus) sind sie im UV-Bereich gegenüber dem Dartnall-Nomogramm verbreitert und im Rotbereich verschmälert.

Für die mit Hilfe eines Rechners durchgeführte Näherung der SE-Kurve durch die Superposition von Einzelrhodopsinen unterschiedlicher Lage und Größe wurde die von Dartnall vorgeschlagene Formkonstanz der Sehpigmente zugrunde gelegt. Diese aus programmtechnischen Gründen gemachte Annahme führt im sichtbaren Spektralbereich zu einem vernachlässigbar kleinen Fehler. Für die (meist deutlich abgesetzte) UV-Reaktion wurden zusätzlich Simulationen mit einem "Ascalaphus-Rhodopsin" durchgeführt, dessen Empfindlichkeitsverlauf experimentell ermittelt wurde (Hamdorf et.al., 1971). Die Fit-Güte dieser UV-Rhodopsine ist je nach untersuchter Tierart uneinheitlich. Hinsichtlich der Maximallage und -amplitude ergaben sich jedoch im allgemeinen keine gravierenden Unterschiede, wenn mit den verschiedenen UV-Anteilen die gemessenen SE-Kurven synthetisiert wurden.

Das Ergebnis einer solchen Synthese zeigt Abb. 6.2.2. Hier wurde die (in Abb. 6.2.1 dargestellte) experimentell ermittelte SE-Kurve (gepunktet) durch die Addition von Rhodopsinen genähert. Wie bei allen Simulationen dieser Art, die in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, wurde dabei davon ausgegangen, mit einer Minimalzahl von Rhodopsinen eine ausreichende Näherung zu erhalten.

Im Fall des Schmetterlings A.u. führt die Superposition der drei

Rhodopsine mit den Absorptionsmaxima bei ca. 360 nm, 460 nm und 530 nm zu einem befriedigenden Ergebnis. Diese Maximallagen schwanken im Normalfall wesentlich weniger als 10 nm bei der Untersuchung verschiedener Tiere. Bei mehreren Experimenten am gleichen Objekt unterscheiden sich die Werte im allgemeinen nur geringfügig.

Aufgrund der Ergebnisse der Simulation kann man vermuten, daß das Rezeptorsystem von A.u. drei verschiedene Photopigmente enthält, die in verschiedenen Sehzellen vorliegen könnten. Die Überprüfung dieser Hypothese wird durch chromatische Adaptationsexperimente ermöglicht.

Bei der chromatischen Adaptation wird zusätzlich zum Reiz ein spektral beschränktes (gegebenenfalls monochromatisches) Adaptationslicht den Lichtsinneszellen geboten. Wird dieses Licht besonders durch ein in einer Sehzelle lokalisiertes Photopigment absorbiert, so führt dies im Fall der FIS-Untersuchungen zu folgendem Effekt: Durch die Erhöhung des Adaptationsniveaus verschiebt sich der Arbeitspunkt für den FIS-Reiz auf der System-Kennlinie. Die Größe des FIS-Reizes selbst (nicht aber der Modulationsgrad) bleibt konstant. Die Antwortgröße wird aber durch die Steigung der Kennlinie im Arbeitspunkt bestimmt. Diese ändert sich beim biologischen Objekt im allgemeinen in Abhängigkeit vom Adaptationsniveau. Als Resultat wird daher auch die Antwortgröße der Sehzellen modifiziert, die durch die Absorption des Adaptationslichtes ihren Arbeitspunkt verschieben. Im Normalfall wird die Antwortgröße durch Zusatzlicht vermindert, da die Steigung der Rezeptor-Kennlinie mit zunehmender Intensität abnimmt. Durch die chromatische Adaptation ist es somit möglich, gezielt die Reaktion der Sehzellen zu beeinflussen.

Abb. 6.2.3 zeigt das Ergebnis eines solchen Experimentes. Hier wurde die SE von A.u. durch Adaptation mit der grünen Linie ($\lambda_A = 514.5$ nm) eines Argon-Lasers modifiziert.

Das in Abb. 6.2.3 dargestellte Resultat stützt die Annahme, daß 3 in unterschiedlichen Rezeptorzellen vorliegende Rhodopsine die spektrale Summenempfindlichkeit des Schmetterlinges A.u. erzeugen. Dies zeigt Abb. 6.2.4.

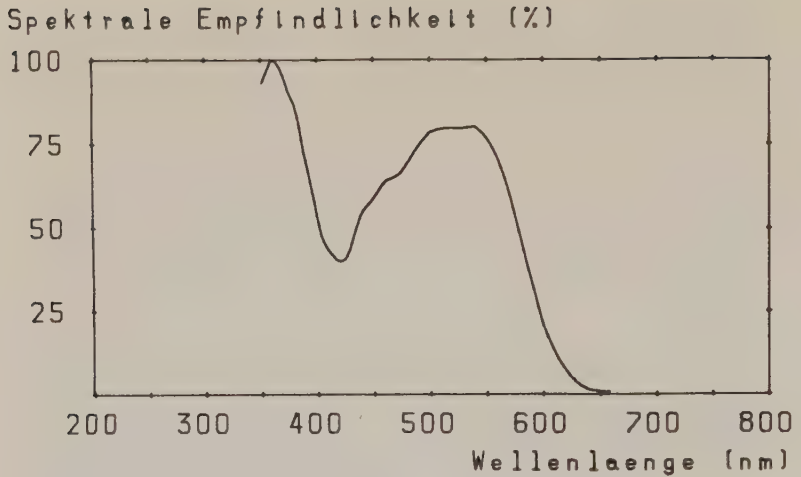


Abb. 6.2.3: Spektrale Empfindlichkeit von *Aglais urticae* bei Adaptation mit einem Argon-Laser ($\lambda_A = 514.5$ nm);

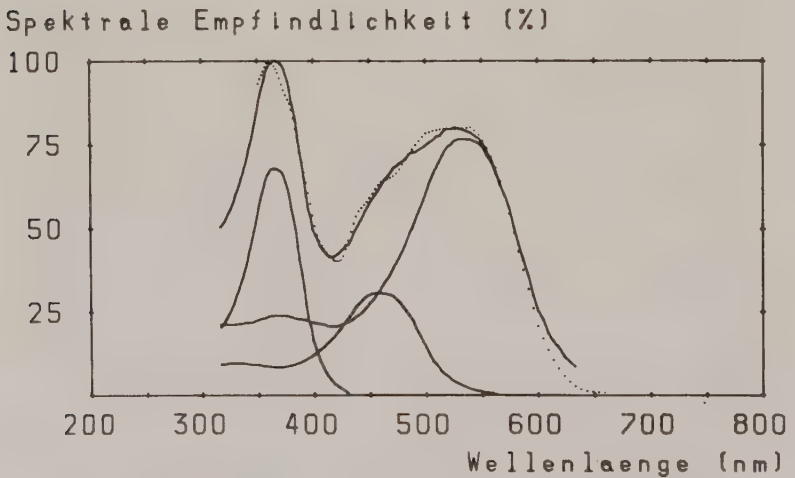


Abb. 6.2.4: Synthese der in Abb. 6.2.3 dargestellten Spektralen Empfindlichkeit;

Durchgezogen: Einzelrhodopsine und deren Summenkurve;
Gepunktet: Originalkurve nach Abb. 6.2.3 ;

In Abb. 6.2.4 ist die unter chromatischer Adaptation ermittelte SE-Kurve durch Rhodopsine genähert, die im Vergleich mit Abb. 6.2.2 die gleiche Lage, aber unterschiedliche Amplitude aufweisen.

Das Adaptationslicht wird stark von dem Grün- und schwach von dem Blau-Pigment absorbiert. Entsprechend ihrer Absorptionswahrscheinlichkeit sind ihre Antwortanteile gegenüber dem UV-Rhodopsin abgesenkt. Die Absorptionswahrscheinlichkeiten der getroffenen Pigmente bei der Wellenlänge $\lambda = 514.5$ nm verhalten sich wie 12:1 (siehe Abb. 6.2.2). Nimmt man eine lineare Auswirkung der Arbeitspunktverschiebung auf die Antwortänderung an, wie sie in einer quadratischen Näherung der Kennlinie gegeben ist¹⁾, so sollten sich die Antwortreduktionen wie die Absorptionswahrscheinlichkeiten verhalten. Tatsächlich läßt sich ein Verhältnis der Absenkungen von 12.5:1 bei Adaptationslicht-Zusatz errechnen.

Insgesamt kann also festgestellt werden, daß es aufgrund der Computer-Näherung mit Einzel-Rhodopsinen und der chromatischen Adaptation sehr wahrscheinlich ist, daß (mindestens) drei spektral verschiedene Rezeptoren den Lichtsinnesapparat von A.u. bilden. Damit sind die primären Voraussetzungen für eine Farbverarbeitung gegeben.

Ein verblüffend ähnliches Bild ergibt sich bei den FIS-Untersuchungen des Waldbrettspiels P.a. Das Resultat ist in Abb. 6.2.5 dargestellt. Die Einzelpunkte geben den experimentell ermittelten Verlauf der SE wieder, die durchgezogenen Linien die einzelnen Pigmente bzw. die durch Superposition gewonnene Näherungskurve.

Im Vergleich mit der SE von A.u. (Abb. 6.2.2) ergibt sich eine im Rahmen der Meßgenauigkeit exakte Übereinstimmung der Lage der Einzel-Rhodopsine. Dieses Ergebnis wird noch interessanter, wenn man berücksichtigt, daß beide Schmetterlingsarten früher zur gleichen Familie (Nymphalidae) gezählt wurden (Lampert, 1907). Auch wenn das heute nicht mehr der Fall ist (siehe Kapitel 5.1), weist die Ähnlichkeit der Photopigmente auf eine enge phylogenetische Verwandtschaft hin, wenn man nicht an eine analoge Entwicklung glauben will.

1) Bei einer quadratischen Kennlinie ändert sich die Steigung linear mit dem mittleren Reizniveau.

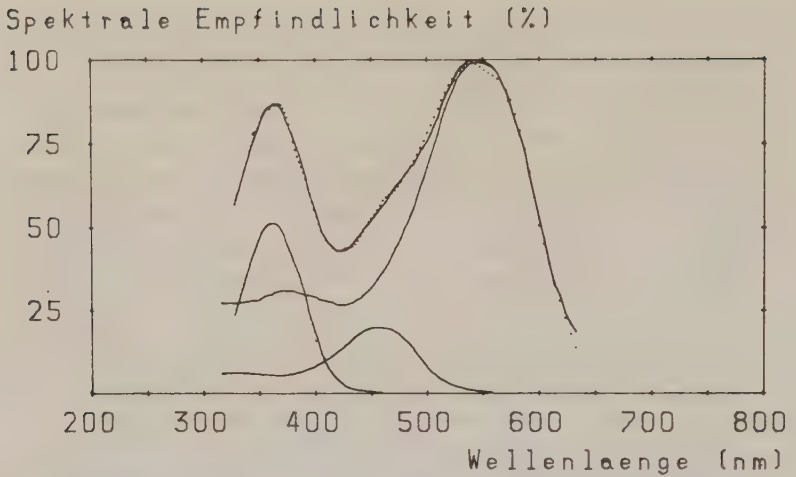


Abb. 6.2.5: Spektrale Empfindlichkeit von *Pararge aegeria* (gepunktet) und deren Synthese durch Einzelrhodopsine (durchgezogen);

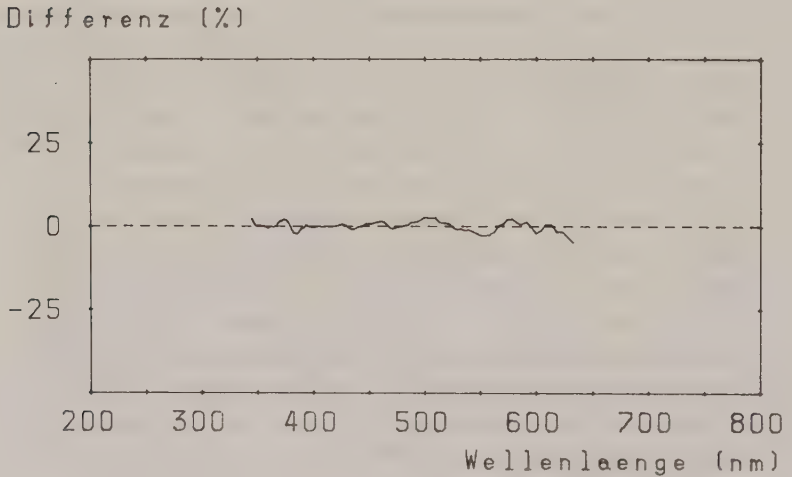


Abb. 6.2.6: Differenzspektrum zwischen Original und Synthese aus Abb. 6.2.5;
Die Differenzwerte sind auf die Originalkurve aus Abb. 6.2.5 normiert;

Die gute Näherung der simulierten SE-Kurve an das gemessene Resultat, die schon in Abb. 6.2.5 zu erkennen ist, wird in Abb. 6.2.6 noch einmal als Differenz der beiden Empfindlichkeiten dargestellt. Diese Art der Auftragung kann dazu verwendet werden, durch die Korrelation verschiedener Messungen kleine, nicht durch Rauschen begründete Abweichungen zwischen den SE-Kurven zu ermitteln.

Im Fall der Schmetterlinge A.u. und P.a. sind jedoch die Differenzkurven verschiedener Messungen im Rahmen der Meßgenauigkeit unkorreliert; die Unterschiede zwischen der synthetisierten und experimentell ermittelten SE-Kurve sind mit hoher Wahrscheinlichkeit durch die Streuung der Meßpunkte bedingt.

Zusammenfassend soll somit festgehalten werden:

In diesem Kapitel wurden am Beispiel der Schmetterlinge A.u. (kleiner Fuchs) und P.a. (Waldbrettspiel) die Untersuchungsmethoden vorgestellt, die zur Analyse der aus extrazellulären Ableitungen bestimmten SE dienen. Im einzelnen sind dies:

Die Synthese der Summenempfindlichkeit aus Einzelpigmenten; sie erfolgt unter der Annahme, daß die in den Rezeptor-Strukturen vorliegenden Photopigmente mit Rhodopsinen identisch sind.

Als weitere Methode dient die chromatische Adaptation; sie geht von der Annahme aus, daß die Sehzellen unterschiedliche Pigmente enthalten und sich deshalb selektiv adaptieren lassen. In Verbindung mit der SE-Synthese ist es dann möglich, die Pigmente der einzelnen Rezeptorzellen zu bestimmen.

Als dritte Möglichkeit der Analyse kann man zusätzlich das Differenzspektrum zwischen theoretischer und experimenteller SE-Kurve verwenden. Durch die Mittelung mehrerer Differenzkurven können auch kleine, systemspezifische Effekte in der SE vom Rauschen getrennt werden.

Beim Vergleich der SE von A.u. und P.a. fällt auf, daß diese hinsichtlich der Maximallagen der Pigmente im Rahmen der Meßgenauigkeit identisch sind. Dies könnte eventuell durch eine stammesgeschichtliche Verwandtschaft bedingt sein.

In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß sich extrazelluläre FIS-Untersuchungen unter Einbeziehung der hier vorgestellten Analyse-Methoden wegen ihrer einfachen und schnellen Durchführbarkeit und

dennoch hohen Genauigkeit gut für eine vergleichende Untersuchung des Photorezeptor-Systems phylogenetisch verwandter Arten eignen würden. Es wäre sicher interessant, Photorezeptor-Strukturen unter dem Gesichtspunkt der stammesgeschichtlichen Entwicklung elektrophysiologisch zu untersuchen.

Schon bei den Ergebnissen dieses Kapitels fällt auf, daß sich synthetisierte und experimentell mit FIS ermittelte SE-Kurven bei den Schmetterlingen (und auch bei anderen untersuchten Insekten) mit sehr hoher Genauigkeit decken. Dies ist bei herkömmlichen Untersuchungsmethoden nicht immer der Fall. Die Abweichungen zwischen theoretischer Rhodopsin-Kurve und gemessener SE werden allgemein auf verschiedene Einflüsse zurückgeführt, die im nächsten Kapitel diskutiert werden.

6.3 Die möglichen Ursachen für eine Abweichung zwischen experimentell ermittelter und synthetisierter SE-Kurve

Wie im letzten Kapitel gezeigt werden konnte, lassen sich die durch FIS ermittelten SE-Kurven gut durch die Summe mehrerer Rhodopsin-Spektren annähern. Die Experimente mit herkömmlichen Methoden weisen dagegen im allgemeinen eine geringere Übereinstimmung zwischen der Absorptionskurve des Photopigments und der gemessenen Spektralkurve auf. Dies zeigen z. B. die Ergebnisse von /Eguchi et al., 1982/. Sicher wurden die dort dargestellten SE-Kurven verschiedener Schmetterlingsarten mit vergleichbarer experimenteller Sorgfalt wie bei den FIS-Messungen ermittelt. Trotzdem treten bei den Resultaten von Eguchi et al. so starke Abweichungen auf, daß die SE-Kurven höchstens qualitativ durch Einzel-Rhodopsine genähert werden können. Diese unterschiedliche Güte in den Ergebnissen ist zum einen methodisch begründet: So enthält die mit FIS bestimmte Spektralkurve wesentlich mehr Stützpunkte, die einen glatteren Kurvenzug ergeben, der sich besser durch eine Rhodopsin-Funktion nähern läßt. Auch die weiteren FIS-Vorteile, die in früheren Kapiteln erwähnt wurden, tragen dazu bei, ein verbessertes Ergebnis zu erhalten.

Es existieren jedoch einige "biologische" Effekte, die eine elektrophysiologisch ermittelte SE so modifizieren können, daß eine befriedigende Näherung mit Rhodopsin-Kurven nicht mehr zu erwarten ist. Damit wäre es möglich, die Ergebnisse der mit herkömmlichen Methoden bestimmten SE-Kurven und deren Abweichungen zumindest qualitativ zu erklären.

Die Problematik dieser "Stör-Effekte" und ihre potentiellen Auswirkungen auf die SE-Bestimmung soll im folgenden kurz beleuchtet werden.

Mögliche spektrale Modifikationen ergeben sich einmal aus der optischen Struktur des Photorezeptors. Diese Effekte werden vor allem von /Snyder und Menzel, 1975/ diskutiert. Danach wird die Rhodopsin-Kurve hauptsächlich durch drei Ursachen beeinflusst: Die Selbstabschirmung bei großer Rhodopsin-Konzentration, die laterale Filterwirkung im fusionierten Rhabdom und die Lichtleiter-Eigenschaften im schmalen, langen Rhabdom.

Die Selbstabschirmung, die mit wachsender Rhabdomerenlänge und zunehmender Konzentration des Photopigmentes stärker wirksam wird, führt zu einer Verbreiterung der Rhodopsinkurve. Sie scheint bei Schmetterlingen nur eine untergeordnete Rolle zu spielen, wenn man die Ergebnisse von /Eguchi et al., 1982/ betrachtet. Die gemessenen Spektralkurven sind im allgemeinen schmaler oder höchstens vergleichbar mit den Rhodopsinkurven.

Es sei jedoch angemerkt, daß die FIS-Methode eine potentielle Wirkung der Selbstabschirmung verringern würde. Dies folgt aus der Tatsache, daß der hell-adaptierte Photorezeptor eine geringere Rhodopsin-Konzentration (und damit eine geringere Selbstabschirmung) aufweist.

Die laterale Filterwirkung beruht auf dem Effekt, daß im fusionierten Rhabdom Licht aus benachbarten, spektral unterschiedlichen Rezeptorzellen wirksam werden kann. Dieser Effekt wirkt der Selbstabschirmung entgegen. Ob und inwieweit er bei den untersuchten Schmetterlingen eine Rolle spielt, kann aufgrund mangelhafter Daten hier nicht geklärt werden. Es ist jedoch denkbar, daß auch die laterale Filterwirkung im helladaptierten Zustand geringer ist. Dies

wäre der Fall, wenn mit der Helladaptation eine Reduktion des "Übersprechens" zwischen benachbarten Sehzellen (z. B. durch Pigmentwanderung) verbunden wäre. Dann würde bei FIS-Untersuchungen ebenfalls der laterale Filtereffekt weniger wirksam sein.

Die Lichtleiter-Eigenschaften eines langen, schmalen Rhabdoms führen zu einer Erhöhung der SE mit kürzer werdender Wellenlänge. Als Folge davon werden Maximallagen zum kürzerwelligen Spektralbereich verschoben und die Spektralkurve deformiert. Ob und inwieweit Lichtleiter-Effekte eine Rolle spielen, kann aufgrund fehlender geometrisch-optischer Rezeptordaten für die untersuchten Schmetterlinge hier nicht geklärt werden. Aufgrund der festgestellten Übereinstimmung zwischen FIS-Ergebnissen und synthetisierten SE-Kurven ist jedoch zu vermuten, daß Lichtleiter-Eigenschaften bei A.u. und P.a. nur von geringer Bedeutung sind.

Ein weiterer möglicher Einfluß auf die gemessenen Spektralkurven, - die Auswirkung des im lichtadaptierten Zustand vorliegenden Metarhodopsins-, wird bei /Hamdorf, 1979/ diskutiert. Er zeigt anhand von Modellrechnungen für die Schmeißfliege, daß unter der Farbfilter-Wirkung des Metarhodopsins die Absorptionskurve des Photopigments verschmälert und zum kürzerwelligen Spektralbereich verschoben wird. Diese Effekte wurden von Hamdorf für eine SE-Bestimmung mittels monochromatischer Reize hergeleitet.

Die von /Paul, 1981/ durchgeführten FIS-Untersuchungen der Schmeißfliege zeigen jedoch nicht die von Hamdorf postulierten Auswirkungen des Metarhodopsins. Diese Diskrepanz könnte vielleicht dadurch erklärt werden, daß der von Hamdorf angenommene Wert der Metarhodopsin-Konzentration ($\approx 80\%$ der Gesamtkonzentration von Rhodopsin und Metarhodopsin) nicht den Verhältnissen entspricht, die bei einer natürlichen Beleuchtung (und damit auch annähernd bei FIS) gegeben sind. /Rosner, 1975/ vermutet, daß bei der Wildform von C.e. unter Tageslichtbedingungen nur ca. 10% Metarhodopsin in den Rezeptorstrukturen vorliegen. Damit dürfte nur eine geringe Farbfilterwirkung auf die SE der Schmeißfliege verbunden sein. Ob und inwieweit eine Abschirm-Wirkung der Metarhodopsine auch bei den untersuchten Schmetterlingen eine Rolle spielt, kann aufgrund der

vorliegenden Daten nicht entschieden werden.

Basierend auf Hamdorfs analytischen Überlegungen ist es denkbar, daß der Metarhodopsin-Einfluß prinzipiell bei FIS-Messungen vernachlässigt werden kann. Dies soll im folgenden kurz angedeutet werden:

Für die Anzahl der vom Rhodopsin P absorbierten Quanten I_P bei einer Reizwellenlänge λ_t leitet Hamdorf folgende Beziehung ab:

$$I_P(C_P, \lambda_t) = I_0 \cdot \{ C_P \alpha_P(\lambda_t) / [C_P \alpha_P(\lambda_t) + (C_{Po} - C_P) \cdot \alpha_{Mg}(\lambda_t)] \} \cdot \{ 1 - \exp - [\alpha_P(\lambda_t) \cdot C_P + \alpha_{Mg}(\lambda_t) \cdot (C_{Po} - C_P) \cdot 1] \} \quad (6.3.1)$$

Die Gleichung wurde /Hamdorf, 1979/ entnommen. Die einzelnen Größen haben dabei folgende Bedeutung:

I_0 : auf den Rezeptor fallende Quanten

α_P, α_{Mg} : Absorptionskoeffizienten von Rhodopsin (P) bzw. Metarhodopsin (Mg)

C_P, C_M, C_{Po} : Pigment-Konzentrationen von P, M, und P+M , wobei M=Mg

l: Rhabdomer-Länge

Gleichung 6.3.1 bildet die Grundlage, aus der Hamdorf die oben beschriebenen FarbfILTER-Effekte des Metarhodopsins folgert, die bei der SE-Bestimmung mit monochromatischen Reizen auftreten müßten.

Im Falle des polychromatischen Testreizes, der bei FIS auch gleichzeitig Adaptationsniveau ist, bleibt das sich einstellende Gleichgewicht zwischen P und M im zeitlichen Mittel konstant. Die Rate der Quantenabsorptionen durch P und M müssen im Fließgleichgewicht gleich sein. Dies läßt sich formal wie folgt beschreiben:

$$V_P \cdot C_P = V_M \cdot C_M = V_M \cdot (C_{Po} - C_P) \quad (6.3.2)$$

Dabei sind ∇_P und ∇_M die Absorptions-Koeffizienten für den polychromatischen Reiz, der im zeitlichen Mittel konstant ist.

Setzt man Gleichung (6.3.2) in Gleichung (6.3.1) ein, so ergibt sich:

$$I_P(C_P, t) \sim I_O(t) \cdot \{1 - \exp(-2\nabla_P \cdot C_P \cdot l)\} \quad (6.3.3)$$

Die Größen I_P und I_O sind im Falle des FIS-Reizes zeitabhängig. Die Wellenlängenabhängigkeit steckt nur noch implizit in der Größe ∇_P . Ist der Exponent in Gleichung 6.3.3 klein gegen 1, so läßt sich nähern:

$$I_P(C_P, t) \sim I_O(t) \cdot \nabla_P \cdot C_P \cdot l \quad (6.3.4)$$

Diese Näherung ist gültig, wenn keine Selbstabschirmungseffekte auftreten.

Die Größe $I_P(C_P, t)$ beschreibt das zeitliche Verhalten des nur durch die Gesamtabsorption ∇_P modifizierten Reizes $I_O(t)$. Die Quanten $I_P(C_P, t)$ erzeugen die elektrisch meßbare Zellreaktion; dies ist bei der FIS-Methode das Antwort-Interferogramm.

Wie aus Gleichung 6.3.4 ersichtlich, hängt es nicht mehr von der Absorption des Metarhodopsin ∇_M ab. Diese Unabhängigkeit wurde durch die Annahme eines zeitlich konstanten Fließgleichgewichtes erreicht, welches durch den FIS-Reiz angenähert wird.

Wenn die voranstehenden Überlegungen zutreffen, ist es somit denkbar, daß FIS-Untersuchungen keinen Einfluß des Metarhodopsins auf die SE zeigen. Damit wäre auch das Fehlen solcher Effekte bei den Fliegen- und Schmetterlingsmessungen erklärt.

Allerdings sollen die obigen Betrachtungen als Denkanstoß aufgefaßt werden, der noch einer ausführlichen theoretischen und experimentellen Überprüfung bedarf.

Neben den geometrisch-optischen Eigenschaften der Photorezeptor-Strukturen und der Filterwirkung des Metarhodopsins können auch noch elektrische Effekte die aktionsspektrometrische Bestimmung der SE beeinflussen. Nach den elektrophysiologischen Untersuchungen von

/Horridge et al., 1983/ und /Matic, 1983/ an Schmetterlingen können in deren Rezeptorstrukturen elektrische, inhibitorische Wechselwirkungen auftreten. Als Ursache dafür nehmen die Autoren an, daß aufgrund eines hohen extrazellulären Widerstandes der durch die lichtinduzierte Membranreaktion erzeugte Strom teilweise benachbarte Sehzellen in umgekehrter Richtung durchläuft.

Für die intrazellulären Untersuchungen mit monochromatischen Rechteckreizen bedeutet dies, daß ein Vorzeichenwechsel der spektralen Reaktion (und damit formal negative SE-Werte) auftreten können, wenn benachbarte Zellen stärker als die abgeleiteten auf den Lichteiz einer bestimmten Wellenlänge reagieren. Die Arbeiten obiger Autoren enthalten solche Ergebnisse.

Die inhibitorischen elektrischen Wechselwirkungen sollten auch bei ERG-Ableitungen zu so starken Modifikationen der ermittelten SE-Kurven führen, daß diese nicht mehr durch Einzelrhodopsine näherbar sind. Wie die Ergebnisse der FIS-Untersuchungen jedoch zeigen, können solche Effekte dort nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Eventuell ist auch dieses Verhalten durch die besondere Reizform bei FIS bedingt. Die elektrischen Vorgänge zwischen benachbarten Zellen sind sicher je nach Verfahren unterschiedlich: Bei der herkömmlichen Untersuchungsmethode werden die dunkeladaptierten Rezeptorzellen durch einen monochromatischen Lichtreiz erregt, und die elektrische Reaktion der Membranerregung gemessen. Bei FIS dagegen liegen die Rezeptorzellen schon vor, während und nach dem Reiz in einem starken elektrischen Erregungszustand vor. Nur die Änderung des Potentials dient als Grundlage zur Fourier-analytischen Bestimmung der SE.

Welche Wirkung ein komplexer Reiz auf ein Rezeptor-System mit elektrischen Verbindungen haben kann, läßt sich nicht einfach vorhersagen¹⁾. Hierzu könnten jedoch Rechnersimulationen mit den von

1) /Horridge et al., 1983/ schreiben im Hinblick auf komplexe Reizformen: "... there will be complex interactions that make nonsense of predicting the resolution ... to mixed colours ..".

/Horridge et al., 1983/ beschriebenen Rezeptor-Modellen im Rahmen einer weiteren Arbeit sinnvoll und nützlich sein. Eventuell zeigt sich dabei als Ergebnis eine FIS-Stabilität gegenüber elektrischen Wechselwirkungen, wie man sie aufgrund der experimentellen Befunde vermuten kann.

Der Vollständigkeit halber sei noch angemerkt, wie sich eine Vorzeichenumkehr der elektrischen Reaktion bei den FIS-Untersuchungen auswirken müßte: Bei FIS gibt es aufgrund des Berechnungsverfahrens nur positive Werte in der Amplituden-Frequenz-Darstellung. Eine wellenlängenabhängige Antwortreduktion, die über den Wert "0" zu negativen Reaktionen führt, wird bei FIS betragsmäßig dargestellt; der Phasen-Frequenzgang zeigt jedoch am spektralen Punkt des Vorzeichenwechsels einen Phasensprung von $q = 180^\circ$. Eventuell werden solche Effekte bei den ERG-Untersuchungen zur SE des menschlichen Auges gemessen (siehe Kapitel 6.9). Bei den Ableitungen aus der Retina von Insekten wurden aber bisher die oben beschriebenen spektralen Verläufe von Amplitude und Phase nicht registriert.

Auf eine mögliche Spektralmodifikation durch Schirmpigmente wurde bisher nicht eingegangen. Hierzu sei auf die Schlußbemerkung dieses Kapitels verwiesen.

Zusammenfassend soll festgehalten werden:

Vergleicht man die mit herkömmlichen Methoden ermittelten Spektralkurven von Schmetterlingen (z. B. Eguchi et al., 1982 oder Horridge et al., 1983) mit den Ergebnissen der FIS-Untersuchungen, so läßt sich feststellen, daß sich letztere mit höherer Güte durch die Summe von Einzel-Rhodopsinen nähern lassen. Dies ist sicher vor allem in den methodischen FIS-Vorteilen begründet.

Es existieren beim biologischen Objekt jedoch Effekte, die die experimentell ermittelte SE gegenüber der Superpositionskurve einzelner Photopigmente modifizieren können. Die Ursachen für solche Effekte sind z. B. der geometrisch-optische Aufbau der Rezeptorstrukturen, die Farbfilter-Wirkung des Metarhodopsins oder von Schirmpigmenten und die elektrische Wechselwirkung zwischen benachbarten Sehzellen.

Aufgrund der guten Näherung der mit FIS bestimmten SE-Kurven durch die Summe von Einzel-Rhodopsinen ist zu vermuten, daß obige Effekte (exclusive Schirmpigmen-

te) bei der FIS-Methode nur eine untergeordnete Rolle spielen. In diesem Kapitel wurde versucht, dafür mögliche Erklärungen zu finden und die theoretischen Hintergründe zu beleuchten.

Besonders bei quantitativer Betrachtung bleiben jedoch einige interessante Fragen offen, die vom Umfang her nur in einer gesonderten Arbeit beantwortet werden können.

Die Farbfilter-Wirkung z. B. photostabiler Abschirmpigmente wurde in diesem Kapitel nicht diskutiert. Sie kann natürlich ebenfalls die SE-Kurve beeinflussen, und ist bei FIS in gleicher Weise wie bei herkömmlichen Untersuchungsmethoden wirksam. Die Ergebnisse bei A.u. und P.a. lassen jedoch vermuten, daß dort im Rahmen der Meßgenauigkeit nur annähernd glatte Spektralfilter wirksam sein können.

Dagegen zeigt der Verlauf der SE-Kurve beim Kohlweißling P.b. mit hoher Wahrscheinlichkeit einen deutlichen, durch ein Abschirmpigment bedingten Farbfiltereffekt. Die Ergebnisse der FIS-Untersuchungen am Schmetterling P.b. werden in den folgenden Kapiteln dargestellt.

6.4 FIS-Untersuchungen zur SE bei *Pieris brassicae*; die Abhängigkeit von Ableitort und -tiefe

Wie im Kapitel 6.2 gezeigt wurde, läßt sich bei den Schmetterlingen A.u. (kleiner Fuchs) und P.a. (Waldbrettspiel) deren SE mittels FIS gut aus ERG-Ableitungen ermitteln. Untersuchungen an verschiedenen Versuchstieren unter unterschiedlichen Bedingungen (Elektroden-Ableitort, Ableittiefe) führten qualitativ immer zu den in Abb. 6.2.1 bzw. 6.2.5 dargestellten Spektralreaktionen.

Beim Kohlweißling P.b. dagegen ergaben die ERG-Untersuchungen ein uneinheitliches, anfänglich äußerst verwirrendes Bild. Erst durch den Vergleich vieler, mit FIS unter verschiedenen Bedingungen ermittelten Spektralkurven konnten die Gesetzmäßigkeiten gefunden werden, die die starken Schwankungen in den Ergebnissen erklärten.

Die sehr unterschiedlichen Spektralreaktionen von P.b. sind auf

zwei Effekte zurückzuführen: Die aus den ERG-Ableitungen ermittelte SE hängt zum einen stark von der Tiefe des Ableitortes ab. Zum anderen spielt auch die untersuchte Augenregion eine Rolle.

Eine Abhängigkeit der SE von Geschlecht und Alter der Tiere wurde ebenfalls überprüft. Hier ergaben sich jedoch keine positiven Befunde.

In den Abb. 6.4.1 bzw. 6.4.2 sind die Fourier-analytisch ermittelten SE-Kurven von *P.b.* in Abhängigkeit von der Einstichtiefe der Ableitelektrode für den dorsalen bzw. ventralen Augenbereich dargestellt. Die Tiefenangaben bezeichnen dabei den Abstand der Elektroden spitze von der Augenoberfläche; sie wurden, wie früher beschrieben, aus dem Elektroden vorschub und dem geschätzten Einstichwinkel berechnet. Als Besonderheit sei noch erwähnt, daß die hier dargestellte Tiefenreihe jeweils am gleichen Tier ermittelt wurde. Allerdings ergaben auch Einzelmessungen an verschiedenen Tieren bei unterschiedlichen Einstichtiefen vergleichbare Resultate.

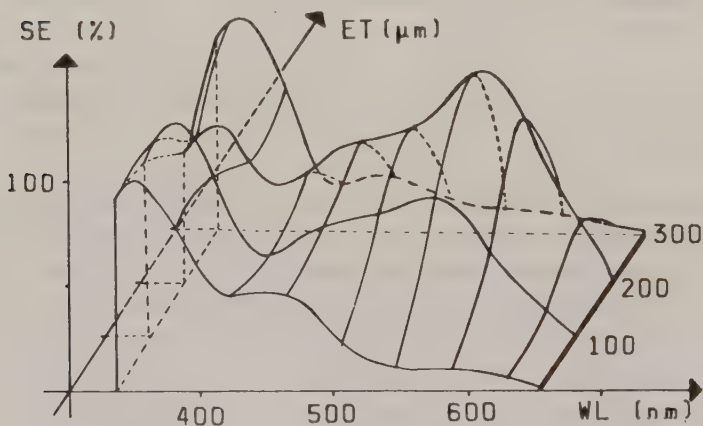


Abb. 6.4.1: Tiefenabhängige Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* im dorsalen Augenbereich;
SE: Spektrale Empfindlichkeit ; WL: Wellenlänge ; ET: Einstichtiefe der Ableitelektrode ;

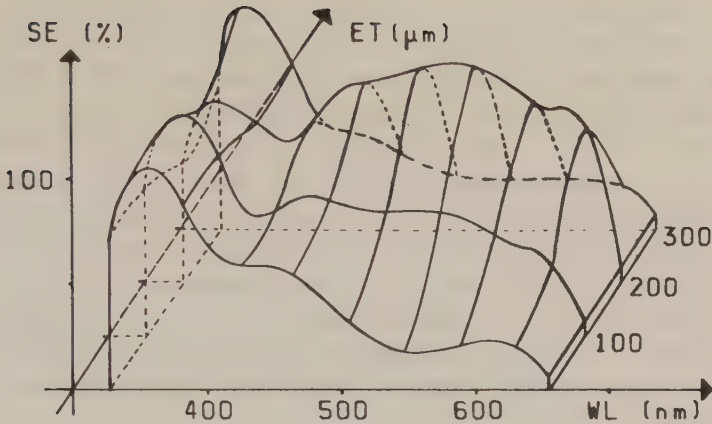


Abb. 6.4.2: Tiefenabhängige Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* im ventralen Augenbereich;
SE: Spektrale Empfindlichkeit ; WL: Wellenlänge ; ET: Einstichtiefe der Ableitelektrode ;

Die in den Abb. 6.4.1 und 6.4.2 dargestellten Ergebnisse weisen folgende Gemeinsamkeiten auf:

Die Tiefenabhängigkeit kann man in drei Zonen mit jeweils ähnlicher Spektralverteilung einteilen. Bei kleiner ($< 50 \mu\text{m}$) bzw. größer ($> 300 \mu\text{m}$) Tiefe läßt sich eine hohe SE im UV-Bereich feststellen. Die Reaktion im sichtbaren Spektralbereich ist dagegen wesentlich kleiner, besonders, wenn man sie mit den Werten bei mittlerer Tiefe vergleicht. Hier wird die Sichtbar-Empfindlichkeit gleich hoch oder sogar größer als die UV-Reaktion. Gleichzeitig erscheint deren Maximallage geringfügig zum längerwelligen Spektralbereich verschoben.

Neben einer hohen SE im sichtbaren Wellenlängenbereich zeichnet sich die Mittelzone der Tiefenschichtung ($50 \mu\text{m} - 300 \mu\text{m}$) durch weitere Besonderheiten aus. Die Rechteck-Plateau-Antwort, die in der distalen und proximalen Zone maximal ca. 1 mV beträgt, wird in

der mittleren Tiefe ca. 10 - 20 mal so groß. Voraussetzung dafür ist eine geeignete Ausrichtung des Versuchstieres, da dieses in der Mittelzone (im Gegensatz zu den Randzonen) eine stark winkelabhängige Reaktion zeigt. Die Halbwertsbreite der Richtungsempfindlichkeit beträgt ca. 8° . Dabei ist zu beachten, daß bei einer Verkipfung des Tieres aus der Maximallage die Antwort zuerst schnell, dann jedoch nur langsam abnimmt. Durch eine Verkipfung wird gleichzeitig das Verhältnis der UV- zur Sichtbarreaktion erhöht. Auf diese Punkte wird noch einmal in Kapitel 6.6 eingegangen.

Die SE-Kurven verschiedener Messungen zeigen besonders in der mittleren Tiefenzone noch quantitative Unterschiede, die sich jedoch eindeutig unterschiedlichen Tiefen des Ableitortes zuordnen lassen.

Neben der Abhängigkeit von der Einstichtiefe modifiziert auch der am Insektenauge gewählte Ableitort die Spektralreaktion. Es lassen sich dabei zwei unterschiedliche Empfindlichkeitstypen feststellen, die der oberen (fronto-) dorsalen bzw. der übrigen, hier als "ventral" bezeichneten Augenregion zugeordnet sind¹⁾.

Betrachtet man die Ergebnisse der Mittelzone, so kann man folgendes erkennen:

Im dorsalen Augenbereich (Abb. 6.4.1) hat die SE von P.b. neben der UV-Reaktion noch ein Maximum bei ca. 560 nm; ihr Verlauf ähnelt qualitativ den Befunden von A.u. und P.a. In der ventralen Augenregion (Abb. 6.4.2) ist die Spektralkurve im Sichtbaren breiter und glatter; zusätzlich weist die SE-Kurve noch eine Schulter in ihrer Rot-Flanke auf. Die UV-Empfindlichkeit dagegen ist für beide Augenregionen ähnlich.

Analog zu den Untersuchungen an A.u. und P.a. (siehe Kapitel 6.2) wurde versucht, die bei P.b. gemessene SE durch die Superposition von Einzelrhodopsinen zu synthetisieren. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

In Abb. 6.4.3 ist die Synthese für eine dorsale Empfindlichkeit

1) Zu dieser Aufteilung siehe auch Abb. 6.6.2

in mittlerer Einstichtiefe dargestellt. Die Punkte entsprechen dabei den Fourier-analytisch ermittelten Werten, die mit der durchgezogenen Linie (Summe der Einzelrhodopsine) zusammenfallen. Die der Superposition zugrunde liegenden Einzelkurven sind ebenfalls durchgezogen eingezeichnet.

Spektrale Empfindlichkeit (%)

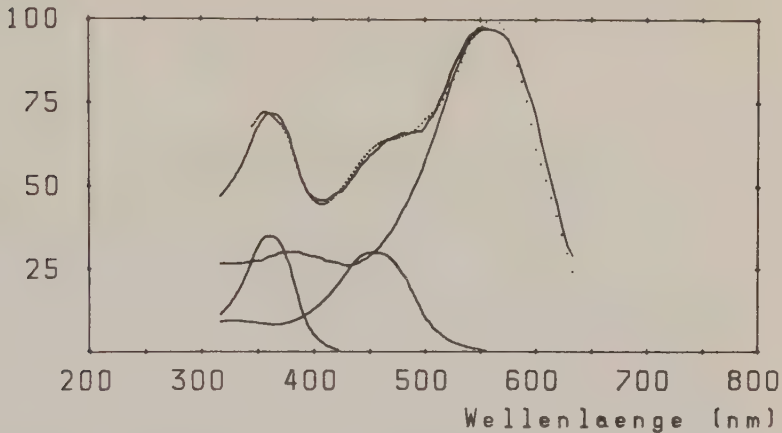


Abb. 6.4.3: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* (dorsal, Mittelzone ; gepunktet) und deren Synthese (durchgezogen) ;

Aus Abb. 6.4.3 erkennt man, daß sich die dorsal gemessene Spektralkurve gut durch die Summe dreier Photopigmente nähern läßt. Diese haben die Maximallagen von ungefähr $\lambda_1 = 360$ nm, $\lambda_2 = 450$ nm und $\lambda_3 = 560$ nm¹⁾.

Mit diesen drei Photopigmenten ist es möglich, bei konstanter Lage, aber unterschiedlichen Amplituden alle in Abb. 6.4.1 dargestellten SE-Kurven befriedigend zu nähern. Als Beispiel dafür dienen die Abb. 6.4.4 und 6.4.5. Sie zeigen die Näherung für eine Dorsalmessung in der Distal- bzw. Proximalzone.

1) Die Maximalagen der Rhodopsine wurden jeweils auf die 10-er Stelle gerundet.

Spektrale Empfindlichkeit (%)

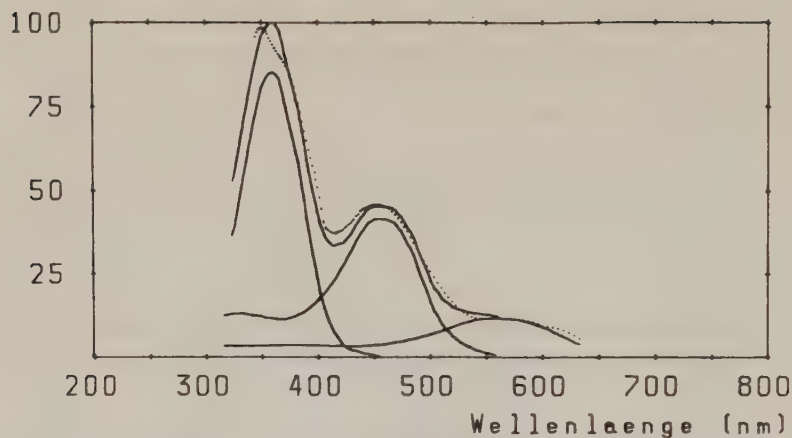


Abb. 6.4.4: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* (dorsal, distale Zone ; gepunktet) und deren Synthese durch Einzelrhodopsine (durchgezogen) ;

Spektrale Empfindlichkeit (%)

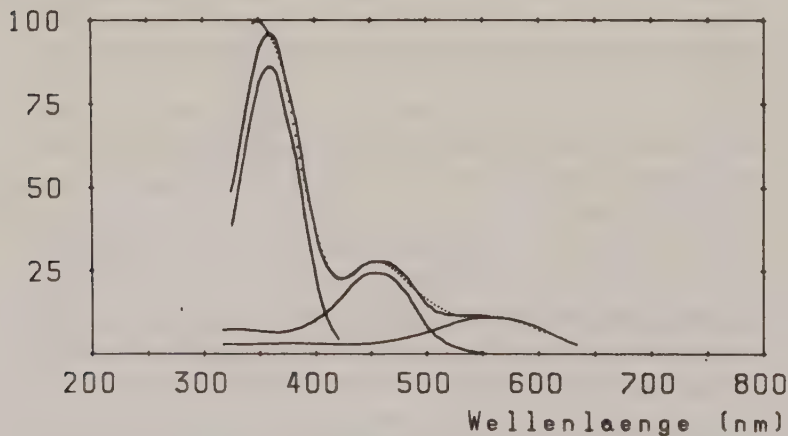


Abb. 6.4.5: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* (dorsal, proximale Zone ; gepunktet) und deren Synthese durch Einzelrhodopsine (durchgezogen) ;

Spektrale Empfindlichkeit (%)

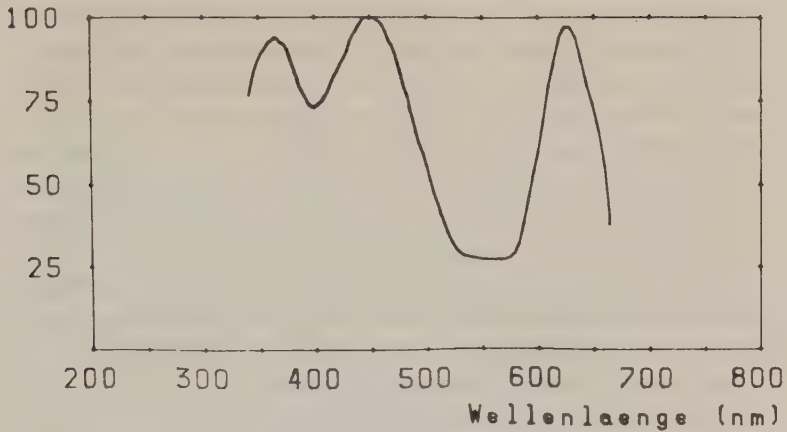


Abb. 6.4.6: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* (ventral, Mittelzone) bei Ausfall des Grün-Rezeptors;

Spektrale Empfindlichkeit (%)

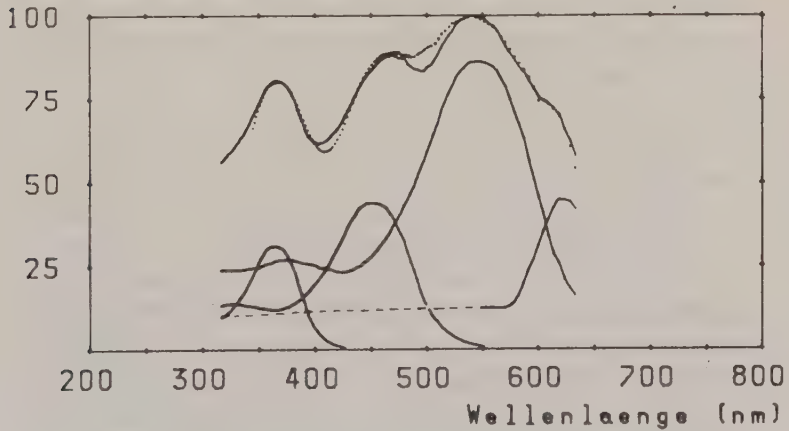


Abb. 6.4.7: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* (ventral, Mittelzone; gepunktet) und deren Synthese durch Einzelrhodopsine (durchgezogen) ;

Für die Reaktion der ventralen Augenregion war die synthetische Näherung schwieriger: Weder die Anpassung mit den drei obigen Pigmentkurven, noch die Annahme eines weiteren, zusätzlichen Rhodopsins führten zu einem befriedigenden Ergebnis. Bei diesen Versuchen traten eindeutige Unstimmigkeiten zwischen der ermittelten und synthetisierten Spektralkurve auf. Zusätzlich zeigten die Maximallagen der 3 bzw. 4 Ausgangsrhodopsine bis auf den UV-Anteil keine Übereinstimmung mit den Resultaten der Dorsalregion.

Eine auch in dieser Hinsicht zumindest qualitativ befriedigende Näherung ergab sich erst durch Einführung eines aktions-spektrometrisch wirksamen Rot-Anteils¹⁾, der wesentlich schmaler als ein vergleichbares Rhodopsin ist. Dieser Rot-Anteil wurde aufgrund einzelner Messungen ähnlich Abb. 6.4.6 angenommen.

In Abb. 6.4.6 erkennt man im Vergleich mit den Ventral-Ergebnissen der Mittelzone (siehe Abb. 6.4.2), daß im grünen Spektralbereich eine starke Dämpfung der Empfindlichkeit erfolgt ist. Diese Farbanomalie, die insgesamt in ähnlicher Form bei drei verschiedenen Versuchstieren auftrat, wurde hypothetisch durch den Total-Ausfall eines Grün-Rezeptors erklärt. Damit sollte der Kurvenverlauf im Rot-Bereich hauptsächlich durch ein Rot-Pigment verursacht sein, welches eventuell (ähnlich den Rhodopsinkurven) einen Ausläufer zu kürzeren Wellenlängen hat.

Mit diesem hypothetischen Rot-Pigment und drei zusätzlichen Einzel-Rhodopsinen wurden die Ventral-Reaktionen genähert. Abb. 6.4.7 zeigt ein Ergebnis für die mittlere Tiefe.

Die der Näherung zugrunde gelegten Anteile haben die Maximallagen von ungefähr $\lambda_1 = 360$ nm, $\lambda_2 = 450$ nm, $\lambda_3 = 540$ nm und $\lambda_4 = 620$ nm. Beim Vergleich mit den Dorsallagen fällt nur die Abweichung des Grün-Anteils auf. Sie beträgt im Mittel ca. 15 nm. Es ist äußerst wahrscheinlich, daß diese durch eine fehlerhafte Annahme des Rot-Anteils verursacht wird. Besonders der (gestrichelt gezeichnete)

1) Obwohl dieser Anteil wellenlängenmäßig im orangen Spektralbereich liegt, soll in Übereinstimmung mit anderen Autoren von einem Rot-Anteil gesprochen werden.

konstanter Anteil im gesamten Spektralbereich ist sicher nur eine grobe Näherung der tatsächlich vorliegenden Gegebenheiten.

Unter diesem Gesichtspunkt kann man annehmen, daß die dorsale und ventrale Spektralreaktion sich durch die bezüglich ihrer Maximallage gleichen Rhodopsin-Einzelkurven synthetisieren lassen. Bei der ventralen Reaktion ist allerdings noch ein zusätzlicher Rot-Anteil nötig, der nicht durch ein Rhodopsin dargestellt werden kann.

Es sei wiederum angemerkt, daß sich alle gemessenen ventralen Spektralkurven gleich befriedigend nähern lassen, wenn man bei konstanter Maximallage die quantitativen Beiträge je nach Tiefe des Ableitortes modifiziert. Einzelne Ergebnisse hierzu wurden in /Steiner, 1982/ vorgestellt. Noch einmal soll betont werden, daß sich auch die Spektralkurven der Randzonen erst dann befriedigend nähern lassen, wenn der aktionsspektrometrisch wirksame Rot-Anteil berücksichtigt wird.

Zusammenfassend kann somit festgehalten werden:

Die Spektral-Untersuchungen des Kohlweißlings P.b. führen zu einem uneinheitlichen Ergebnis. Die aus den ERG-Messungen gewonnene Form der SE ist eine Funktion der Augenregion und der Tiefe des Ableitortes.

Hinsichtlich der Tiefe des Ableitortes lassen sich drei Tiefenschichtungen mit jeweils ähnlicher Spektralverteilung erkennen: In einer distalen Zone (0 μm - 50 μm von der Augenoberfläche) und einer proximalen Zone (>300 μm) überwiegt stark die UV-Antwort. In der Mittelzone wächst der Sichtbar-Anteil bis ca. zur gleichen Antworthöhe wie die UV-Reaktion. Gleichzeitig wird die Rechteckantwort 10-20 mal so groß wie in den Randzonen. Zusätzlich ist die Antworthöhe von der Einfallsrichtung des Reizlichtes abhängig. Die Halbwertsbreite der Richtungsempfindlichkeit beträgt ca. 8°. In den Randzonen ist dagegen keine ausgeprägte Winkelabhängigkeit der Reaktion feststellbar.

Die SE-Kurven zeigen besonders in der Mittelzone weitere quantitative Unterschiede, die sich jedoch eindeutig unterschiedlichen Tiefen des Ableitortes zuordnen lassen.

Hinsichtlich der Augenregion wurden zwei Typen von Spektralkurven gefunden, die sich aufgrund ihres Verlaufes im sichtbaren Wellenlängenbereich unterscheiden. Die in der (fronto-) dorsalen Augenregion gefundene Spektralreaktion hat ein Maximum bei ca. 560 nm. Die Reaktion der übrigen,

als "ventral" bezeichneten Augenregion erscheint im sichtbaren Spektrum breiter und glatter. Die UV-Empfindlichkeit ist für beide Augenbereiche ähnlich.

Die Näherung der gemessenen Spektralkurven durch die Superposition von Einzelrhodopsinen brachte folgendes Ergebnis:

Im dorsalen und ventralen Augenbereich lassen sich alle Fourier-analytisch ermittelten Spektralkurven durch die Summation dreier Rhodopsine mit konstanter Lage, aber unterschiedlicher Amplitude annähern. Die Maximallagen betragen dabei ca. 360 nm, 450 nm und 560 nm (ventral: 540 nm). Für die Ventral-Reaktion wird zusätzlich noch ein aktionsspektrometrisch wirksamer Rot-Anteil ($\lambda_{\max} \approx 620$ nm) zur Näherung benötigt. Er ist wesentlich schmaler als eine hypothetische Rhodopsin-Absorption.

Für die Synthese-Versuche wurde die rote Spektralreaktion von Messungen benutzt, bei denen aufgrund von ungeklärten Anomalien der spektral benachbarte Grünbereich stark gedämpft war. Mit großer Wahrscheinlichkeit ist die daraus abgeleitete Annahme des Rot-Anteils nur eine grobe Näherung, die auch die Diskrepanz zwischen den unterschiedlichen Maximallagen des Grünpigmentes in der dorsalen bzw. ventralen Augenregion verursachen kann.

Ob und inwieweit die durch die Synthese ermittelten Pigmente unterschiedlichen Rezeptorstrukturen zuzuordnen sind, soll im nächsten Kapitel durch chromatische Adaptationsexperimente geklärt werden.

6.5 FIS-Untersuchungen zur SE bei *Pieris brassicae*; chromatische Adaptationsexperimente

Wie im vorangegangenen Kapitel gezeigt wurde, lassen sich die beim Kohlweißling P.b. gemessenen Spektralkurven durch drei (dorsaler Augenbereich) bzw. vier (ventraler Augenbereich) aktionsspektrometrisch wirksame Pigmente synthetisieren. In diesem Kapitel wird deren Verhalten unter chromatischer Adaptation untersucht.

Die chromatischen Adaptationsexperimente wurden bei hohen Spektralreaktionen (Ableitungen aus der Mittelzone) durchgeführt. Damit sollte eine eventuelle Vortäuschung von Adaptationseffekten durch die bei kleiner Antwortgröße erhöhte Streuung der Meßwerte vermieden werden.

Abb. 6.5.1 zeigt ein einleitendes Beispiel eines chromatischen Adaptationsexperimentes. Das Tier wurde dabei zusätzlich zum Reiz mit einer einfachen Mikroskopierleuchte konstanter Intensität adaptiert.

Die Meßkurven (ohne und mit Adaptation) sind in Abb. 6.5.1 gepunktet dargestellt. Man erkennt deutlich, daß im adaptierten Fall die Reaktion im sichtbaren Spektralbereich im Verhältnis zur UV-Antwort wesentlich geringer ist. Diese Adaptation erklärt sich durch die Spektralverteilung der Mikroskopierleuchte, deren Glühlicht nur wenig UV-Anteile enthält. Daraus folgend wird hauptsächlich der sichtbare Bereich adaptiert.

In Abb. 6.5.1 ist gleichzeitig die Näherung der im adaptierten Zustand gemessenen Spektralkurve durch die Superposition von Einzel-Pigmenten dargestellt. Deren Maximallagen stimmen mit den Befunden aus Kapitel 6.4 überein.

An dieser Stelle sei erwähnt, daß alle hier vorgestellten Ergebnisse der chromatischen Adaptationsexperimente sich durch drei bzw. vier Pigmente in qualitativ gleicher Güte annähern lassen, wie es im letzten Kapitel für die Spektralkurven ohne Adaptationslicht-Zusatz der Fall war. Zur Näherung wurden dabei jeweils die früher ermittelten Maximallagen und Pigmenttypen (3 Rhodopsine, ventral zusätzlich 1 Rot-Pigment) verwendet.

Für das dorsale Photorezeptorsystem ergab sich nach den Befunden des letzten Kapitels bei P.b. eine Näherung durch drei "Untersysteme", deren maximale Reaktion im UV-, Blau- und Grün-Bereich liegen. Durch das in Abb. 6.5.1 dargestellte Experiment läßt sich das UV-System von den übrigen separieren.

Die Aufspaltung der zwei Sichtbar-Systeme bei der dorsalen Empfindlichkeitsreaktion erfolgte durch chromatische Adaptation mit den monochromatischen Linien eines Argon-Lasers (anregbare Wellenlängen: $\lambda_1 = 476.5$ nm, $\lambda_2 = 488.0$ nm, $\lambda_3 = 496.0$ nm und $\lambda_4 = 514.5$ nm) und eines He-Ne-Lasers ($\lambda_L = 632.8$ nm). Die Intensitäten der verschiedenen Spektrallichter wurden dabei annähernd wirkungsgleich eingestellt. Abb. 6.5.2 zeigt das Ergebnis der Laser-Adaptation.

Spektrale Empfindlichkeit (%)

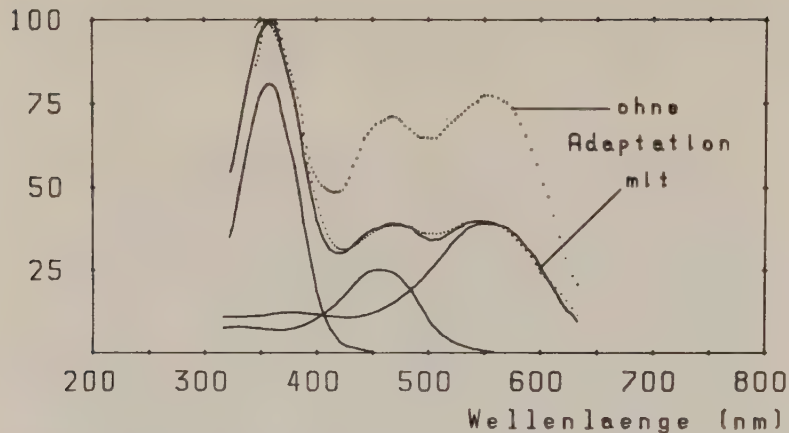


Abb. 6.5.1: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* bei Adaptation mit einer Mikroskopierleuchte (dorsal, Mittelzone ; gepunktet) und deren Synthese durch Einzelrhodopsine (durchgezogen);

Spektrale Empfindlichkeit (%)

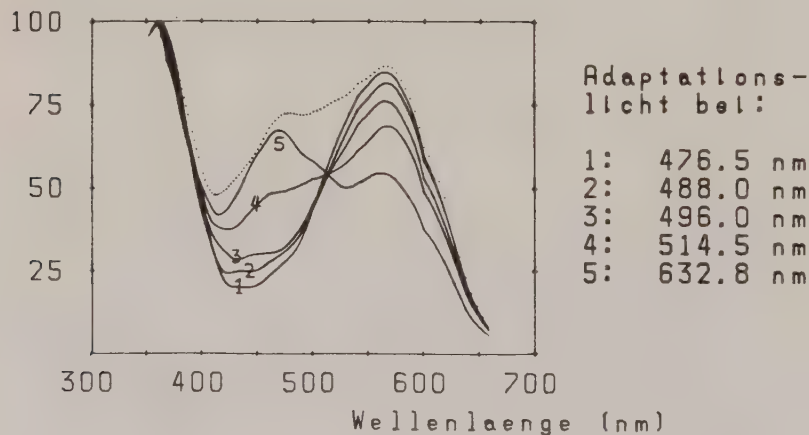


Abb. 6.5.2: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* bei Adaptation mit verschiedenen Laser-Linien (dorsal, Mittelzone) ; Gepunktet: Ohne Adaptationslicht ;

Wie sich aus Abb. 6.5.2 erkennen läßt, ändert sich die SE in Abhängigkeit von der Lage des monochromatischen Adaptationslichtes. Die dargestellten Spektralkurven schneiden sich alle bei annähernd gleicher Empfindlichkeit und Wellenlänge. Je nach spektraler Lage der Laser-Linie bezüglich dieses isobestischen Punktes wird das Verhältnis der links- zur rechtsseitigen Spektralreaktion beeinflusst. Wie nach den Computernäherungen zu erwarten war, können also der blaue und grüne Spektralbereich getrennt adaptiert werden.

Es sei noch einmal bemerkt, daß sich die auftretenden Adaptationseffekte bei der Rechnernäherung allein durch eine Amplituden-Änderung der Einzelbeiträge simulieren lassen. Dies ist ein starker Hinweis dafür, daß die Annahme von Rhodopsin-Spektren zur Synthese der experimentell ermittelten SE-Kurven gerechtfertigt ist. Gleichzeitig können Abschirmpigmente hinsichtlich einer spektralen Beeinflussung nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Da der zur dorsalen Adaptation verwendete Laser nur kurzzeitig zur Verfügung stand, wurde für die Untersuchungen des ventralen Augenbereiches auf eine andere Adaptationslichtquelle zurückgegriffen. Sie bestand aus einer Xenonlampe mit vorgeschaltetem Interferenz-Verlauffilter. Die Bandbreite der damit erzeugten Adaptationslichter betrug annähernd 40 nm. Der Verlaufbereich des Interferenzfilters erstreckte sich von 400 nm - 700 nm. Für UV-Adaptationsexperimente wurde ein UV-Breitband-Filter (ca. 350nm - 400nm) verwendet.

Die folgenden Abbildungen zeigen die Ergebnisse der chromatischen Adaptation für die ventrale Empfindlichkeit des Schmetterlings P.b. Jeweils gepunktet ist die Spektralkurve ohne Adaptationslicht eingezeichnet. Weiterhin ist das Wellenlängenband der jeweiligen Adaptation als schraffierter Balken dargestellt.

Wie aus den Abb. 6.5.3 bis 6.5.6 zu erkennen ist, läßt sich jedes aufgrund der Näherung vermutete Pigment im ventralen Augenbereich selektiv adaptieren. Für die Reaktionen im UV-, Blau- und Grün-Bereich war dies nach den Ergebnissen der Dorsal-Untersuchungen zu erwarten. Interessant ist jedoch die Tatsache, daß sich Rot- und Grünanteil ebenfalls unterschiedlich adaptieren lassen. Sie sind folglich getrennt wirksame Systeme. Eine Modifikation der

Spektralkurve des Grünpigments durch einen Farbfiltereffekt zur Erzeugung der Rot-Schulter innerhalb eines Rezeptor-Systems scheidet somit als mögliche Erklärung aus.

Noch eindrucksvoller als bei den SE-Kurven stellt sich die chromatische Adaptation in der Rohantwort dar (Abb. 6.5.7 bis 6.5.10). Die selektive Adaptation ist wiederum gut erkennbar.

Die Resultate der chromatischen Adaptationsexperimente bestätigen also die Anzahl und Form der Photopigmente, die in den Rezeptorstrukturen des Kohlweißlings P.b. vermutet wurden. Die Ergebnisse entscheiden jedoch bei strenger Betrachtungsweise nicht, ob die Pigmente den Rezeptorzellen einzeln zugeordnet sind. Es wäre zumindest theoretisch denkbar, daß in einer Sinneszelle zwei oder mehrere photolabile Pigmente nebeneinander vorhanden sein könnten, die durch die chromatische Adaptation selektiv gebleicht werden.

Gegen diese Vermutung sprechen jedoch Überlegungen, die in /Kirschfeld, 1979/ durchgeführt werden. Nach diesen Betrachtungen, die im Kapitel 6.8 näher erläutert werden, sind die zu erwartenden Effekte der chromatischen Adaptation nur gering (1 -10%), wenn Photopigmente nebeneinander in einer Rezeptorzelle vorliegen und damit auf die gleiche Membran wirken. Aufgrund der in diesem Kapitel vorgestellten Ergebnisse ist es folglich äußerst wahrscheinlich, daß die einzelnen Photopigmente jeweils unterschiedlichen Lichtsinneszelltypen zugeordnet sind.

Unabhängig von den Überlegungen Kirschfelds, die auf verschiedenen experimentellen Befunden beruhen, wird die nichtlineare Analyse des mit FIS ermittelten Ergebnisses obige Aussage eindeutig beweisen. Mit Vorgriff auf dieses Ergebnis, welches in Kapitel 6.7 dargestellt wird, läßt sich also abschließend feststellen, daß der Schmetterling P.b. auf Rezeptorebene im dorsalen Sehbereich über drei und im ventralen über vier spektral verschiedene Rezeptoren¹⁾ verfügt. Damit ist die Grundlage für trichromatische (dorsal) bzw. tetrachromatische (ventral) Farbverarbeitung von der primären Rezeptorstruktur her gegeben.

1) "Rezeptor" wird hier als rezeptive Einheit im Sinne der Systemanalyse aufgefaßt.

Spektrale Empfindlichkeit (%)

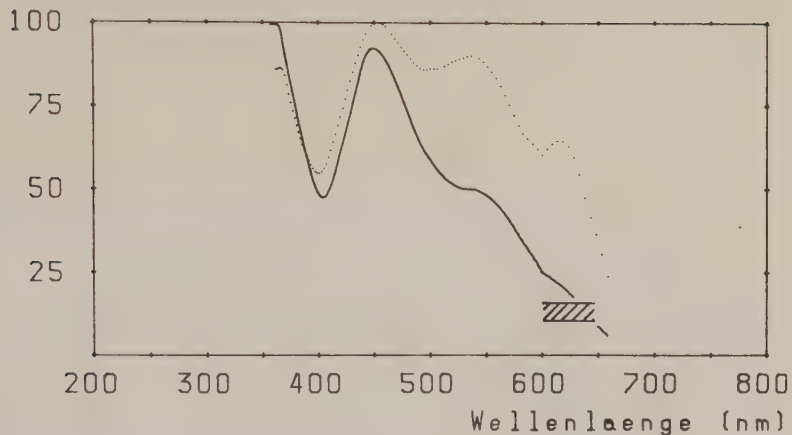


Abb. 6.5.3: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* bei Adaptation (ventral, Mittelzone) ;
Schraffiert: Adaptationslicht ;
Gepunktet: Ohne Adaptationslicht ;

Spektrale Empfindlichkeit (%)

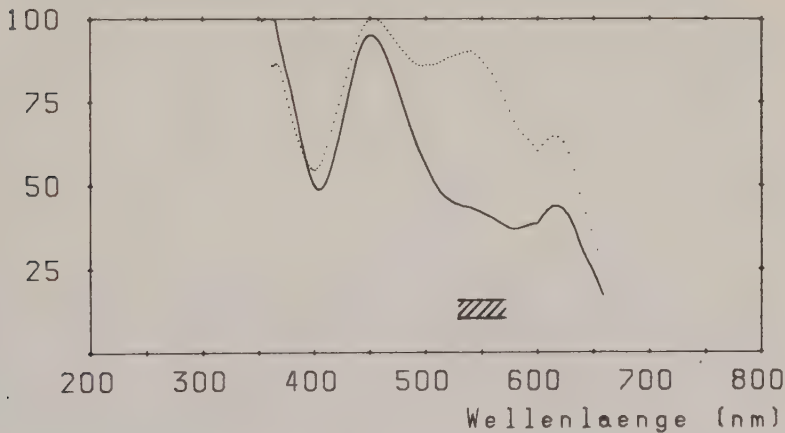


Abb. 6.5.4: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* bei Adaptation (ventral, Mittelzone) ;
Schraffiert: Adaptationslicht ;
Gepunktet: Ohne Adaptationslicht ;

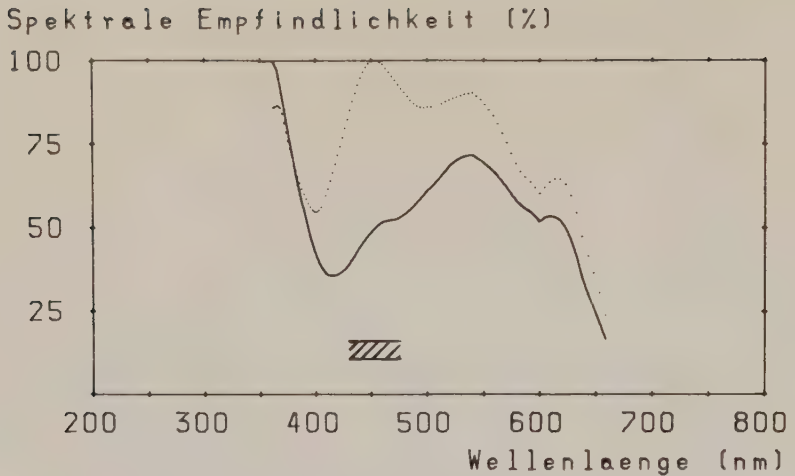


Abb. 6.5.5: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* bei Adaptation (ventral, Mittelzone) ;
Schraffiert: Adaptationslicht ;
Gepunktet: Ohne Adaptationslicht ;

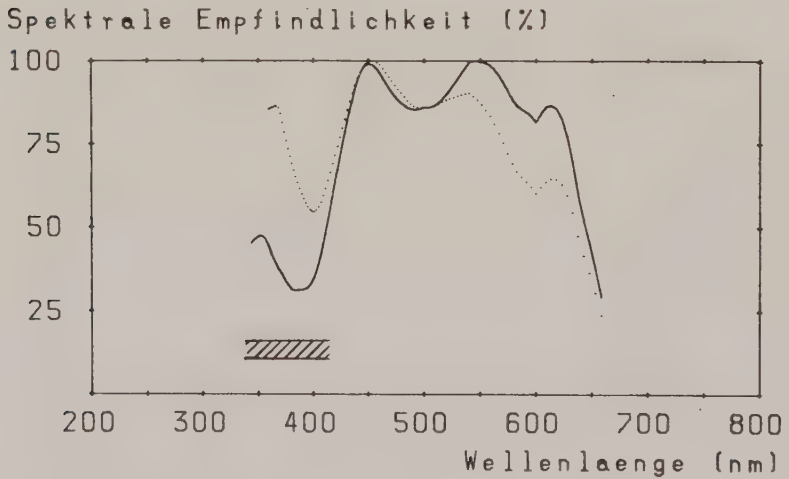


Abb. 6.5.6: Spektrale Empfindlichkeit von *Pieris brassicae* bei Adaptation (ventral, Mittelzone) ;
Schraffiert: Adaptationslicht ;
Gepunktet: Ohne Adaptationslicht ;

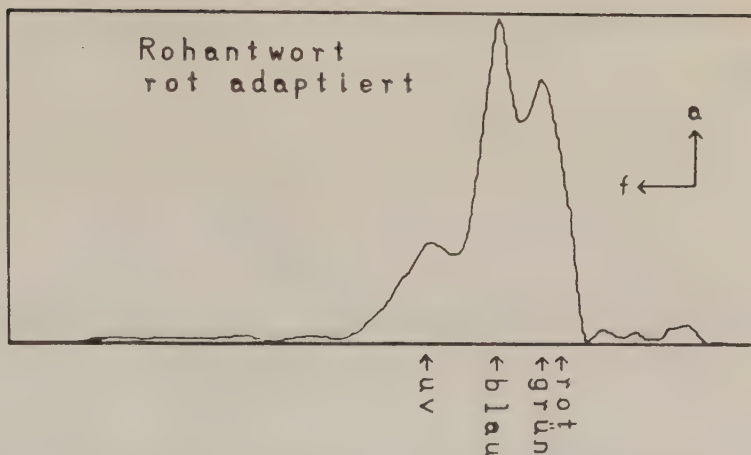


Abb. 6.5.7: Rohantwort von *Pieris brassicae* bei Adaptation (ventral, Mittelzone) ;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ;

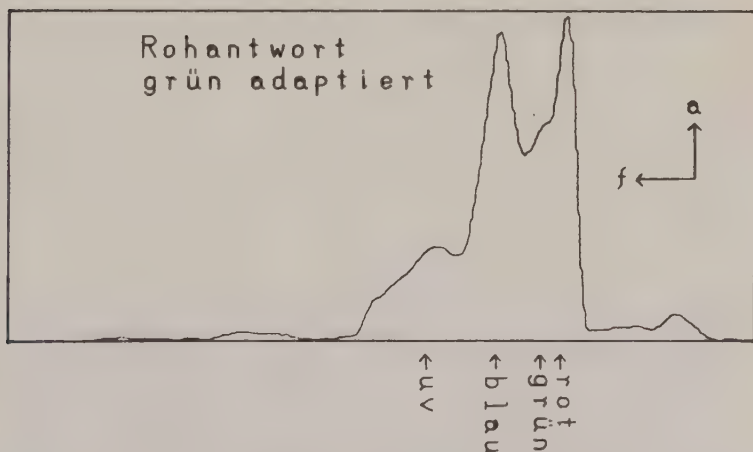


Abb. 6.5.8: Rohantwort von *Pieris brassicae* bei Adaptation (ventral, Mittelzone) ;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ;

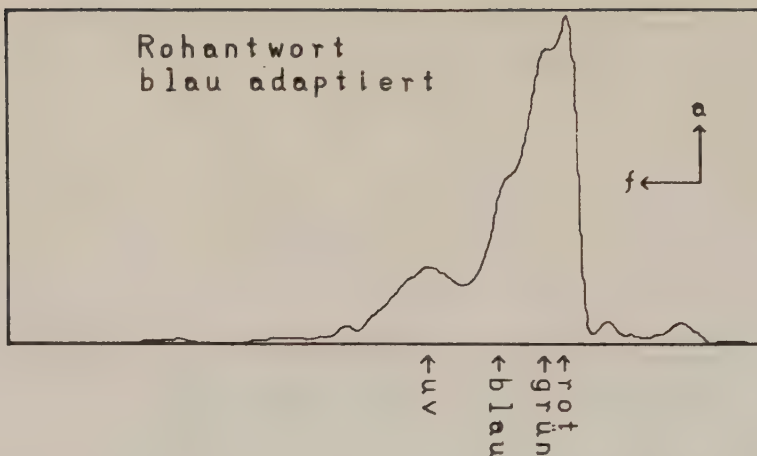


Abb. 6.5.9: Rohantwort von *Pieris brassicae* bei Adaptation (ventral, Mittelzone) ;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ;

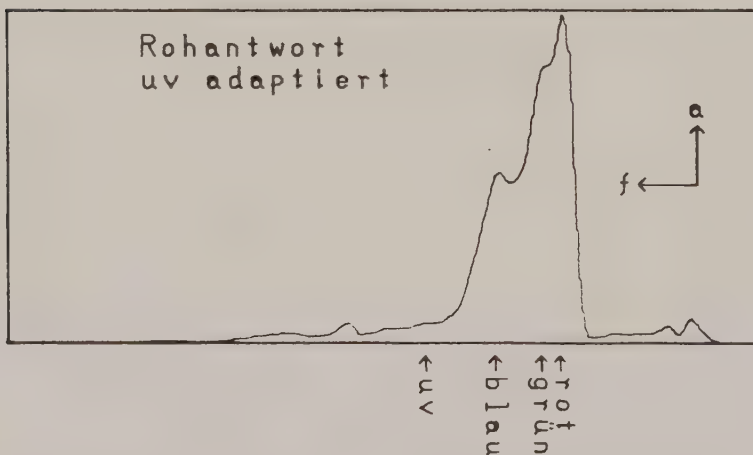


Abb. 6.5.10: Rohantwort von *Pieris brassicae* bei Adaptation (ventral, Mittelzone) ;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ;

Zusammenfassend zeigen die Experimente der chromatischen Adaptation also folgendes Bild:

Die Synthese der im dorsalen bzw. ventralen Augenbereich ermittelten Spektralkurven ist durch drei bzw. vier Einzelpigmente möglich. Diese Pigmente können sowohl dorsal als auch ventral selektiv adaptiert werden, wobei sich die durch die chromatische Adaptation erzeugten Modifikationen der Spektralkurven durch eine unterschiedliche quantitative Zusammensetzung der zur Synthese benötigten Anteile erklären lassen. Dieses Ergebnis bekräftigt die Annahme, daß im dorsalen Augenbereich drei Rhodopsine zur spektralen Summenempfindlichkeit beitragen. Im ventralen Augenbereich muß zusätzlich ein Rot-Pigment addiert werden, welches sich nicht durch die Absorptionskurve eines Rhodopsins darstellen läßt.

Im nächsten Kapitel sollen die hier und im Kapitel 6.4 gefundenen Resultate (soweit nicht schon geschehen) diskutiert und mit den Ergebnissen anderer Autoren verglichen werden.

6.6 FIS-Untersuchungen zur SE bei *Pieris brassicae*; Diskussion und Vergleich mit anderen Ergebnissen

Im Kapitel 6.4 wurde gezeigt, daß die aus ERG-Messungen ermittelten Spektralreaktionen bei P.b. von der Tiefe des Ableitortes und von der untersuchten Augenregion abhängen. Um diese Ergebnisse zu deuten, wird im folgenden die morphologische Struktur der Rezeptoren betrachtet. Sie wurde von /Kolb, 1977; Kolb, 1978; Kolb u. Schwarz, 1980/ untersucht. Ein Ergebnis dieser Untersuchungen ist in Abb. 6.6.1 dargestellt. Wie sich daraus erkennen läßt, ist das verschmolzene Rhabdom unterteilt. Der distale Teil wird ebenso wie der proximale Abschnitt durch jeweils vier Sehzellen gebildet. Zusätzlich existiert noch eine 9. basale Sehzelle, deren Rhabdomer jedoch nur schwach oder gar nicht ausgebildet ist. Basal endet das Rhabdom in einer Tracheengabel¹⁾, die als Tapetum wirkt. Weitere Strukturen des Ommatidiums sind primäre, sekundäre und basale Pig-

1) Ihre Konsistenz verhindert einen erfolgreichen Einstich mit Glas-Elektroden von hinten.

mentzellen mit jeweils unterschiedlichen Pigmentgranula. Zusätzlich enthalten auch proximale und distale Sehzellen unterschiedliche Pigmente. Die Länge der Ommatidien variiert zwischen 290 μm und 500 μm .

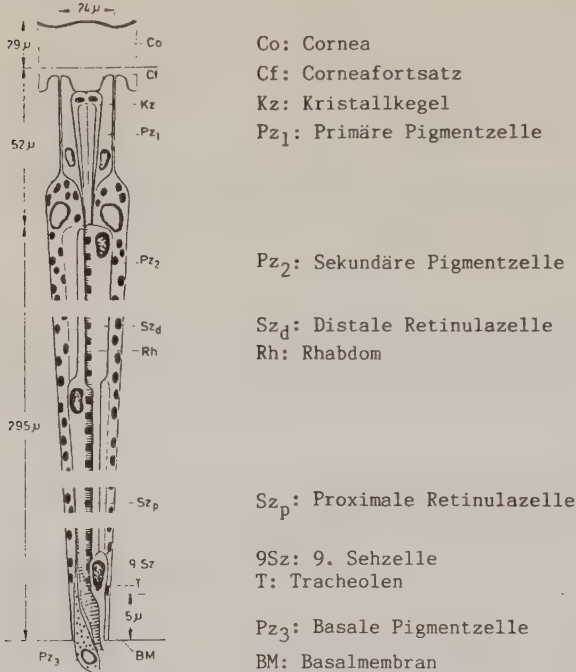


Abb. 6.6.1: Längsschnitt durch ein Ommatidium von *Pieris brassicae*; (aus Kolb, 1977, verändert)

Vergleicht man die elektrophysiologischen Befunde (Abb. 6.4.1 und 6.4.2) mit dem in Abb. 6.6.1 dargestellten morphologischen Aufbau des Ommatidiums, so lassen sich die drei Tiefenzonen unterschiedlicher SE gut histologischen Strukturen zuordnen. Der Außenzone entsprechen die Bereiche Cornea, Kristallkegel und primäre Pigmentzellen. Die Mittelzone ist dem Sehzellenbereich zugeordnet. Bei Ableitungen aus der Innenzone liegt die Elektrodenspitze in der Nähe der Basalmembran.

Das starke Anwachsen des Antwortpotentials im Sehzellbereich und die damit verbundene starke Richtungsempfindlichkeit bei den ERG-Untersuchungen deutet auf eine elektrische Isolierung der Ommatidien hin. Die extrazelluläre Ableitung aus der Mittelzone wäre damit weitestgehend intraommatidial. Der Verlauf der Antwortgröße in Abhängigkeit der Winkelverkipfung (erst schnelle, dann langsame Abnahme) läßt jedoch vermuten, daß ein Antwort-Untergrund von anderen Sehzellen ebenfalls zum registrierten elektrischen Potential beiträgt.

Dieser "extra-ommatidiale" ERG-Anteil wäre in den Randzonen des Ommatidiums besonders wirksam und könnte die dort fehlende Richtungsempfindlichkeit klären.

Die relativ zum Grün/(Rot)-Anteil erhöhte UV/Blau-Reaktion der Spektralkurven in den Randzonen würde auf einen großen kurzwelligen Beitrag im Antwort-Untergrund hinweisen. Dieser Anteil könnte auf eine partielle optische Durchlässigkeit der lateralen Pigmentzellen zurückgeführt werden. Damit wäre auch verständlich, daß eine Winkelverkipfung eine stärkere Abnahme der Sichtbar-Reaktion im Verhältnis zur UV-Reaktion bedingt.

Für letzteren Effekt können auch andere Ursachen verantwortlich sein. Nach den Befunden von /Miller et al., 1968/ wirkt die Tracheen-Struktur als modifizierendes Reflexionsfilter vor allem im UV-Spektralbereich. Damit könnte eventuell eine winkelabhängige Reflexion die Amplitude der UV-Reaktion beeinflussen. Außerdem konnten /Bernhard et al., 1965/ zeigen, daß die Corneaoberfläche durch Nippel strukturiert ist. Diese Nippel wirken abhängig von ihrer Länge spektral als Anti-Reflexionsfilter. Da die optisch wirksame Länge andererseits vom Einfallswinkel des Lichtreizes abhängig ist, kann auch hierdurch das Verhältnis zwischen Sichtbar- und UV-Antwort beeinflußt werden.

Hinsichtlich der tiefenabhängigen Spektralreaktion jedoch können die Cornea- und Tracheenstruktur nicht allein als Erklärung dienen, da sie nur als spektral modifizierende Filter wirken. Es ist daher wahrscheinlich, daß die unterschiedlichen Spektralkurven (besonders in den Randzonen) aufgrund elektrischer Eigenschaften verursacht

werden.

Für Ableitungen aus dem Sehzellbereich ist zu vermuten, daß diejenigen Sehzellen zum ERG-Potential den größten Beitrag liefern, die der Ableitelektrode nächst benachbart sind. Aus den Abb. 6.4.1 bzw. 6.4.2 ergäbe sich damit unter Berücksichtigung der morphologischen Befunde, daß Grün- (und Rot-) Rezeptoren hauptsächlich den proximalen Sehzellen zugeordnet sind.

In diesem Zusammenhang sind die Resultate von /Ribi, 1978/ interessant, der die Pigmentverteilung unter chromatischer Adaptation bei *Pieris rapae* untersucht hat. Ribi schloß aus seinen Experimenten, daß die langwelligen Rezeptoren (gelb-grün) hauptsächlich dem proximalen, die kurzwelligen¹⁾ den distalen Sehzellen zuzuordnen sind. Dies entspräche einer biologisch sinnvollen Anordnung, da distal liegende UV- bzw. Blau-Pigmente aufgrund ihrer Absorptionskurve den grün-roten Spektralbereich nur gering beeinflussen würden. Im Fall einer umgekehrten Anordnung dagegen würde das Grün-Rhodopsin mit seiner β -Absorptionsbande den für tiefer liegende UV- oder Blau-Rezeptoren wichtigen kürzerwelligen Spektralbereich ungünstig beeinflussen.

An dieser Stelle sei angemerkt, daß es mir möglich erscheint, allein aufgrund von ERG-Messungen die ermittelten Pigmente mit hoher Wahrscheinlichkeit bestimmten Sehzellen (oder zumindest Sehzellgruppen) zuzuordnen. Dazu könnte zum einen eine quantitative Auswertung der für die Spektralkurven unterschiedlicher Tiefe durchgeführten Näherung dienen. Zusätzlich wären noch Polarisations-Experimente zur Unterscheidung der proximalen Sehzellen denkbar, da diese aufgrund ihrer gekreuzten Rhabdomeren-Struktur polarisationsempfindlich sein dürften (Kolb, 1977). Solche Experimente wurden jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt. Hier könnte sich ein Ansatz für eine weitere Untersuchung bieten.

Neben der tiefenabhängigen Spektralreaktion ergab sich aus den FIS-Untersuchungen bei P.b. als weitere Besonderheit der aktions-

1) /Ribi, 1978/ fand distal neben UV- noch Grün-Rezeptoren. Die hier durchgeführten Messungen ergeben UV- und Blau-Rezeptoren.

spektrometrisch wirksame Rotanteil bei Ableitungen aus der ventralen Augenregion. Dieser Rotanteil ist vor allem deshalb interessant, weil sich dessen Absorptionseigenschaften nicht durch eine Rhodopsin-Kurve beschreiben lassen. Im folgenden soll dieses Rotpigment näher diskutiert werden.

Ein rotabsorbierendes Photopigment wurde von /Bernard, 1979/ für verschiedene Schmetterlinge nachgewiesen. Seine Ergebnisse beruhen auf Untersuchungen der Pupillen-Reaktion und des reflektierten Lichtes unter variablen Adaptationsbedingungen. Diese Experimente veranlaßten Bernard zu dem Schluß, daß die Photorezeptoren einiger Schmetterlinge (unter ihnen auch *Pieris rapae*; P.b. wurde nicht untersucht) ein Rhodopsin mit einer Maximallage von $\lambda_{\max} \approx 610$ nm enthalten. Die FIS-Ergebnisse zeigen jedoch, daß das Rotpigment zumindest bei P.b. ein anderes Absorptionsverhalten als Rhodopsin hat. Dieser Befund stimmt mit den Ergebnissen von /Langer, 1982/ überein, der in einem Nachtschmetterling mikrospektrometrisch einen Rotrezeptor nachweisen konnte. Der im Ommatidium proximal liegende Rotrezeptor ist ebenfalls nicht durch ein Rhodopsin erklärbar.

Eine mögliche Hypothese zu den Absorptionseigenschaften des Rotpigments ist das Zusammenwirken eines Rhodopsins mit einem Abschirmpigment. Das Abschirmpigment könnte aufgrund von Filtereigenschaften die Absorptionskurve des Photopigments so modifizieren, daß der ermittelte schmalbandige Rotrezeptor entsteht. Diese Vermutung wird durch Untersuchungen zum Augenglühen von P.b. unterstützt (Ribi, 1979; Ribi, 1981). Das Augenglühen ist ein Phänomen, welches sich nach Dunkeladaption bei vielen Schmetterlingen beobachten läßt. Der Kohlweißling P.b. zeigt dabei noch ein zusätzliches, besonderes Verhalten. Sein Augenglühen ist im dorsalen Bereich gelbgrün, im übrigen Auge jedoch orange-rot. Die Augenregionen stimmen dabei mit den Fourier-analytisch ermittelten Bereichen unterschiedlicher Spektralreaktionen überein.

Aufgrund seiner Untersuchungen fand Ribi, daß die proximalen Sehzellen ein rotes Schirmpigment enthalten. Dieses Schirmpigment, welches spektral wie ein Langpass-Filter mit einem Durchlaß ab 550 nm wirkt, fehlt in den Sehzellen der (oberen) dorsalen Augenregion (siehe Abb. 6.6.2).

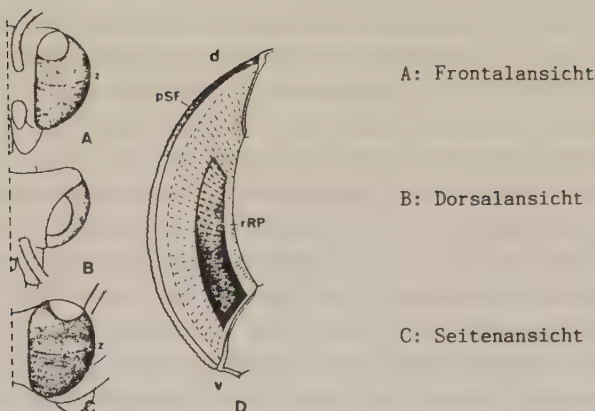


Abb. 6.6.2: A-C: Schematische Darstellung des Augenglühens bei *Pieris brassicae*; z: Augenäquator ; Getönt: Rötliches Augenglühen; weiß: Gelb-grünliches Augenglühen; Abb. 6.6.2: D: Verteilung des roten Schirmpigmentes (rRP; red receptor cell screening pigments) im Längsschnitt durch das Auge ; d: dorsal ; v: ventral ; pSF: Sekundäre Pigmentzellfilamente ; (aus Ribi, 1979)

Bei Berücksichtigung der Befunde von Ribi ist es somit sehr wahrscheinlich, daß das von ihm beschriebene rote Schirmpigment in Verbindung mit einem Photopigment (Rhodopsin ?) den aktionsspektrometrisch wirksamen Rotanteil erzeugt, der bei den FIS-Messungen gefunden wurde.

Es sei noch angemerkt, daß das rote proximale Schirmpigment von seiner Wirkung her sich nicht mit den Befunden bei C.e. in Einklang bringen läßt. Bei C.e. wirken Ommochrome als laterale Rot-Filter derart, daß eine Verkippung des Reizlichtes aus der Sehzellachse zu einer anwachsenden Rotreaktion in der elektrophysiologisch ermittelten Antwort führt. Diese Rot-Antwort ist darin begründet, daß das die Sinneszellen erreichende Licht einen mit zunehmender Verkippung wachsenden Rotanteil enthält, da durch die Ommochrome die kürzerwelligen Spektralanteile immer stärker abgeschirmt werden.

Bei dem Rotanteil von P.b. wurden solche Effekte nicht fest-

gestellt. Es ist daher anzunehmen, daß die Anordnung Rot-Pigment/Photopigment zusammen ein eigenständiges Rezeptorsystem bildet. Dies ist z. B. eher vergleichbar mit den Verhältnissen am Hühnerauge; hier bilden ein als Filter wirkender roter Öltropfen und Photopigment gemeinsam das Photosystem (Bowmaker et al., 1977). Der durch die FIS-Experimente ermittelte Rotanteil kann somit durchaus als eigenständiger Rezeptor für die Sinnesleistung von P.b. eine Rolle spielen.

Der Kohlweißling besitzt somit dorsal drei und ventral vier spektral unterschiedliche Rezeptoren, die ihm von der primären Rezeptor-Struktur her die Farbwahrnehmung ermöglichen. Ob diese jedoch tatsächlich erfolgt, können in erster Linie Verhaltensexperimente klären.

Das wellenlängenspezifische Verhalten wurde schon frühzeitig von /Ilse, 1928; Ilse, 1937/ untersucht. Mit Farbpapieren stellte Ilse fest, daß bei P.b. spektral-spezifische Unterschiede hinsichtlich der Freß-, Eiablage- und Trommel¹⁾-Reaktion auftraten. Eine neuere Untersuchung (u. a. mit quantengleichen Lichtern) wurde von /Kolb und Scherer, 1982/ durchgeführt. Diese Autoren ermittelten, daß Trommeln und Eiablage hauptsächlich dann stattfinden, wenn den untersuchten weiblichen Tieren Licht des Spektralbereiches zwischen ca. 500 nm und 580 nm angeboten wird. Die Freßreaktion findet dagegen bei kürzeren und längeren Wellenlängen statt. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Fourier-analytisch ermittelten Rezeptoren, so ist eine gute Übereinstimmung zu erkennen. Auch die Existenz des Rot-Rezeptors wird durch die Verhaltensexperimente bestätigt, da im Rotbereich eine deutliche, vom benachbarten Grünbereich unterscheidbare Reaktion auftritt.

Die spektrale Korrelation zwischen den Befunden von Kolb und Scherer und den hier vorgestellten Ergebnissen läßt vermuten, daß eine direkte Verschaltung der Rezeptoren auf die nachgeschalteten Neurone stattfindet. Aufgrund einer direkten Verarbeitung seiner Rezeptorsignale wäre es P.b. dann nur möglich, drei bzw. vier un-

1) Repetitierende Bewegung des vordersten Beinpaars.

terschiedliche "Farben" wahrzunehmen. Die Verhaltensexperimente von Kolb und Scherer zeigen jedoch eine geringfügige Spektralverschiebung (ca. 10 nm) zwischen den Maximalreaktionen bei Eiablage und Trommeln. Dies kann als Hinweis gewertet werden, daß eine gegenseitige Verrechnung der Rezeptorsignale erfolgt, die Voraussetzung für eine hohe spektrale Auflösung ist. Möglicherweise liegen auch beide Verarbeitungs-Mechanismen nebeneinander vor.

Bei einer direkten Verarbeitung der Rezeptorsignale würden die Verhaltensversuche den Rot- und Grün-Rezeptor und eine gesonderte kürzerwellige Reaktion bestätigen. Die Auftrennung in UV- und Blau-Rezeptor durch Verhaltensexperimente wird zur Zeit von Scherer bearbeitet (mündliche Mitteilung). Eventuell spielt die UV-Rezeption eine Rolle im Sexualverhalten der Schmetterlinge. Darauf deuten Reflexions-Messungen der Flügeldecken hin, die unter anderem geschlechtsspezifische Unterschiede im kurzwelligen Spektralbereich zeigen (Kolb und Scholz, 1982; Steiner, 1982; Obara, 1970;). Somit könnte der UV-Rezeptor für die Partnersuche bedeutsam sein.

In der Zusammenfassung dieses Kapitels sollen noch einmal folgende Punkte angeführt werden, die beim Vergleich der FIS-Resultate mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen gewonnen wurden:

Die bei P.b. festgestellte Tiefenabhängigkeit der Spektralreaktion läßt sich gut mit dem morphologischen Aufbau eines Ommatidiums korrelieren. Danach erfolgen die Ableitungen der distalen Zone aus dem Cornea-, die der Mittelzone aus den Sehzellen-, und die der proximalen Zone aus dem Basalbereich der Rezeptorstruktur. Als Ursachen für die ermittelten spektralen Unterschiede werden elektrische Eigenschaften in Verbindung mit optischen Gegebenheiten angenommen.

Die spektralen Unterschiede hinsichtlich der Augenregion werden durch das Vorliegen eines roten Schirmpigmentes in der Rezeptorstruktur gedeutet. In Übereinstimmung mit den elektrophysiologischen Befunden liegt dieses Schirmpigment morphologisch nur in dem proximalen Sehzellen der (medio-)ventralen Augenregion vor. Es wird vermutet, daß das Rotpigment und ein Photopigment (möglicherweise Rhodopsin) zusammen ein Photosystem mit annähernd dem spektralen Verlauf bilden, der aus den FIS-Untersuchungen gewonnen wurde.

Wie aufgrund der spektral verschiedenen Rezeptoren zu erwarten war, zeigen Verhaltensexperimente, daß P.b. Wellenlängenbereiche unterscheiden kann. Dabei stimmen spektrale Reaktion und ermittelte Lagen des Rot- und Grün-Rezeptors überein. Kürzerwellige Reizlichter wurden ebenfalls von P.b. wahrgenommen. Eventuell könnte der UV-Rezeptor beim Paarungsverhalten eine Rolle spielen.

Aufgrund der spektralen Zuordnung zwischen Verhaltensreaktion und Einzelrezeptor ist es denkbar, daß die Rezeptorsignale direkt zur Farbwahrnehmung dienen. Andererseits deuten jedoch Verhaltensexperimente auf eine Farbauflösung hin, die nur durch eine gegenseitige Verrechnung der einzelnen Spektralantworten erhalten werden kann. Eventuell liegen auch beide Mechanismen der Farbverarbeitung nebeneinander vor.

Mit diesem Kapitel werden die Auswertungen der mit FIS ermittelten SE-Kurven abgeschlossen. Es konnte anhand verschiedener Beispiele gezeigt werden, daß die aus dem ERG ermittelte Spektralreaktion weitestgehend hinreichend zur Untersuchung eines komplexen Rezeptorsystems sein kann. Dies ist in der Güte, der Reproduzierbarkeit und den vielen biologisch-methodischen Vorteilen von FIS begründet, die eine gute Analyse der gemessenen Summenreaktion durch Näherungsverfahren und chromatische Adaptationsexperimente erlauben.

Neben der spektralen Empfindlichkeit liefert FIS noch weitere Informationen. Dies sind die nichtlineare System-Antwort und der Phasen-Frequenzgang. Wie schon früher angedeutet, können beide Zusatzinformationen als höchsteffizientes Mittel zur Analyse einer komplexen Struktur dienen. In den letzten Kapiteln der vorliegenden Arbeit soll dies an verschiedenen Beispielen demonstriert werden.

6.7 Die nichtlineare Reaktion; ihre Auswertung am Beispiel von Pieris brassicae und Pararge aegeria

Die bisherigen Auswertungen der FIS-Untersuchungen beim Kohlweißling P.b. und Waldbrettspiel P.a. beschränkten sich auf die Ermittlung der SE aus der linearen Spektralantwort des untersuchten biologischen Objektes. Die ebenfalls bei der Fourieranalyse anfallenden Daten der nichtlinearen Systemreaktion und des Phasen-Frequenzganges blieben bisher unberücksichtigt. Sie werden nun in diesem und den nächsten Kapiteln besprochen.

Eine Auswertung von Nichtlinearität und Phase wird erst durch die im ersten Teil dieser Arbeit durchgeführten methodischen Untersuchungen ermöglicht. Die Experimente mit dem Modell-System, die Computer-Simulationen und die theoretischen Überlegungen geben den Zugang zum grundlegenden Verständnis der Nichtlinearität und Phase. Basierend auf den früher erarbeiteten Grundlagen ist nun eine sinnvolle Auswertung der zusätzlichen FIS-Informationen durchführbar.

In Abb. 6.7.1 ist das vollständige, unverrechnete Ergebnis der FIS-Untersuchung des Schmetterlings P.b. (ventraler Augenbereich) dargestellt. Diese Art der Darstellung wurde schon für ein Meßergebnis des Modell-Systems im Kapitel 4.5 gewählt. Dennoch soll sie noch einmal kurz erläutert werden:

Das obere Halbbild enthält den Amplituden-Frequenzgang, der Fourier-analytisch aus dem Antwort-Interferogramm ermittelt wird. Das Frequenzspektrum dieser Antwort-Rohkurve enthält drei Bereiche, die den linearen bzw. nichtlinearen Antwort-Komponenten zugeordnet werden können. Sie sind in Abb. 6.7.1 durch "L" bzw. "NLH" und "NLS" bezeichnet. Wie früher besprochen wurde, läßt sich aus der linearen Frequenz-Antwort die SE durch geeignete Korrekturen bestimmen.

Bei der FIS-Methode ist jeder Reizfrequenz eine definierte Wellenlänge zugeordnet. Die qualitativen Lagen der Farben Rot (R), Grün (G), Blau (B) und UV (U) im Amplituden-Frequenz-Spektrum sind in Abb. 6.7.1 ebenfalls eingezeichnet. Wie dabei zu sehen ist, lassen sich die bei P.b. gefundenen Rezeptoren schon weitestgehend in

der Roh-Antwort feststellen. Im unteren Halbbild ist der Phasen-Frequenzgang dargestellt. Die Phasenlagen sind dabei jedoch schon mit dem Reiz korrigiert, wie es im Kapitel 4.5 beschrieben wurde.

Der Phasenwinkel kann Fourier-analytisch nur zwischen 0° und 360° berechnet werden. Ein kleinerer bzw. größerer Wert wird modulo 360° angegeben. Wenn der ermittelte Phasen-Verlauf somit die obere bzw. untere Darstellungsgrenze überschreitet, wird er zum unteren bzw. oberen Rand versetzt. Dies ist in Abb. 6.7.1 durch gestrichelte Linien angedeutet.

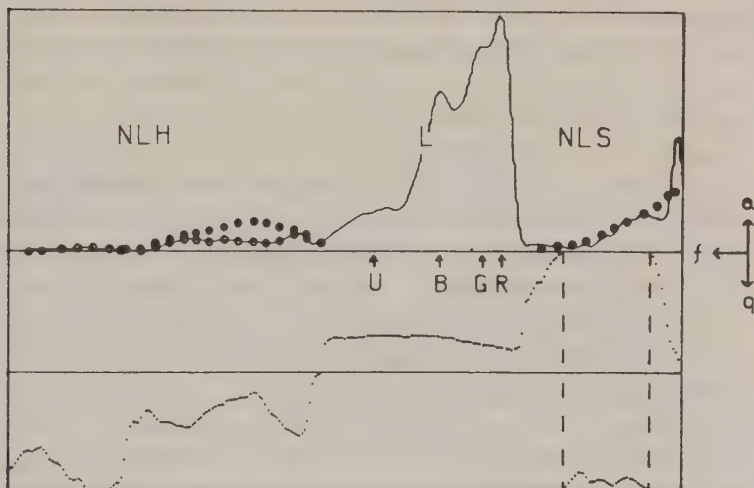


Abb. 6.7.1: Vollständiges Ergebnis der FIS-Analyse von *Pieris brassicae* (ventral, Mittelzone) ;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ; q: Phase (inverse Auftragung zu Kapitel 4.5)
(Näheres siehe Text)

Wie im Kapitel 3.3 beschrieben wurde, ist es möglich, aus der linearen Systemantwort die nichtlineare Reaktion zu errechnen, wenn in ausreichender Näherung eine quadratische Reiz-Antwort-Beziehung vorliegt. Dies ist, wie früher gezeigt werden konnte, bei den hier untersuchten biologischen Objekten der Fall.

In Abb. 6.7.1 ist die berechnete Nichtlinearität (zum besseren Vergleich mit der FIS-Kurve geeignet skaliert) durch Punkte

dargestellt. Die mangelnde Übereinstimmung mit der experimentell bestimmten Kurve im Bereich NLH ist evident, während im Bereich NLS (bis auf die ersten Werte) eine relativ gute Übereinstimmung erkennbar ist.

Diese Resultate erklären sich durch folgende Überlegung:

Bei der Berechnung der quadratischen Nichtlinearität aus der linearen Antwort wurde davon ausgegangen, daß nur ein verzerrendes System vorliegt. Alle wirksamen Reiz-Komponenten werden somit an einer Kennlinie verzerrt. Die durch die Verzerrung entstehenden Nichtlinearitäten lassen sich dabei durch eine Mischung der wirksamen Reizfrequenzen beschreiben. Deshalb werden bei der Berechnung der nichtlinearen Reaktion bei P.b. zum Beispiel auch UV- und Rot-Anteile frequenzmäßig gemischt.

Aufgrund der früheren Befunde ist es jedoch wahrscheinlich, daß P.b. über mehrere, spektral unterschiedliche Photorezeptoren verfügt. Jeder Photorezeptor kann dabei als ein System mit verzerrender Kennlinie aufgefaßt werden. An dieser Kennlinie können sich jedoch nur die Frequenz-Komponenten mischen, die im jeweiligen Rezeptor wirksam werden. Eine Mischung der hauptsächlich von einem UV-Pigment absorbierten Frequenz-Anteile mit den im Rot-System wirksamen Komponenten ist deshalb nicht möglich.

Ähnlich wie die lineare Roh-Antwort die Summe mehrerer Rezeptorreaktionen widerspiegelt, entsteht also die nichtlineare Antwort durch die Superposition der einzelnen Nichtlinearitäten, die die verschiedenen Rezeptor-Systeme erzeugen. Das Zusammenfassen aller Systeme zu einer Einheit mit nur einer Übertragungsfunktion, wie es als Grundlage für obige Berechnung der Nichtlinearität erfolgt ist, muß somit zu einer Diskrepanz zwischen errechnetem und experimentell ermitteltem Ergebnis führen. Wie aus Abb. 6.7.1 ersichtlich, ist die Abweichung besonders groß im Bereich der positiven Frequenz-Mischung (NLH), da dort die Komponenten real nur durch die Wechselwirkung in schmäleren Spektralbändern und nicht durch Mischung der gesamten linearen Antwort gebildet werden. Andererseits ist auch der relativ kleinere Fehler im Bereich der Subharmonischen (NLS) verständlich. Diese Komponenten werden, wie früher ausführ-

lich diskutiert, durch die Differenzbildung zweier Frequenzen erzeugt. Eine Aufteilung der linearen Spektralantwort in mehrere, getrennte Wechselwirkungsbereiche macht eine Mischung dieser Frequenzbänder untereinander unmöglich. Jedes Band bildet aber Differenz-Anteile im unteren Spektralbereich, die (im Gegensatz zu den additiven Komponenten) lagenmäßig zusammenfallen und somit superpositionieren können. Aus diesem Grund ist die Abweichung zwischen berechnetem und Fourier-analytisch ermitteltem NLS-Bereich geringer als im NLH-Bereich.

Wenn die vorausgegangenen Überlegungen stimmen, sollte folglich das Spektralband positiver Frequenzmischung dazu geeignet sein, die Anzahl und spektrale Charakteristik der einzelnen verzerrenden Untersysteme in der linearen Antwort zu überprüfen. Dazu muß die Berechnung der quadratischen Nichtlinearität dahingehend modifiziert werden, daß jeweils nur die in den vermuteten Rezeptoren wirksamen Frequenzen berücksichtigt werden. Die Summen-Nichtlinearität ergibt sich dann aus der Superposition der Einzel-Ergebnisse¹⁾.

Das Ergebnis dieser Berechnung ist in Abb. 6.7.1 durch Kreise dargestellt. Es deckt sich gut mit dem experimentellen Kurvenverlauf. Dies ist jedoch nur der Fall, wenn die vier Rezeptoren, die in der ventralen Augenregion von P.b. vermutet werden, als Berechnungsgrundlage dienen. Eine Zusammenfassung von jeweils zwei Rezeptoren zu einer funktionellen nichtlinearen Einheit liefert für jedes mögliche Paar eine signifikante Abweichung vom gemessenen Befund. Damit ist es erwiesen, daß (im ventralen Augenbereich) vier nichtlineare Untersysteme in den Rezeptorstrukturen von P.b. vorliegen müssen und die Rhodopsine nicht in einer Zelle liegen können.

Es sei noch angemerkt, daß bei der Berechnung des quadratischen Anteils aus Einzel-Rezeptoren ein rechentechnisches Problem auftritt, welches für eine exakte Analyse der NLH berücksichtigt werden muß: Die durch die Computer-Simulation und Adaptationsexperi-

1) Zur Formüberprüfung der Nichtlinearität war eine skalare Addition ausreichend. Exakt müßte jedoch eine vektorielle Addition mit Berücksichtigung der Phase erfolgen.

mente ermittelten Spektralkurven der Einzelrezeptoren sind bereits mit dem Reizlicht-Spektrum normiert. Andererseits werden jedoch an der Rezeptorkennlinie die Antwort-Rohkurven verzerrt. Prinzipiell müssen deshalb die Einzel-Rezeptor-Kurven wiederum mit dem Lampenspektrum verrechnet werden, um die Einzel-Rohantwort zu definieren.

Für die hier durchgeführten Berechnungen wurde die Spektralkurve stückweise stetig genähert. Wie die Ergebnisse zeigen, ist diese Näherung ausreichend, um die in dieser Arbeit interessierenden Fragen zu klären. Es könnte jedoch Aufgabe einer weiteren Arbeit sein, eine genauere Analyse der nichtlinearen Beiträge durchzuführen. Damit wäre es vermutlich möglich, quantitative Aussagen z. B. bezüglich des Verzerrungsgrades oder der Gültigkeit der hypothetisch angenommenen Absorptionskurve der Einzelrezeptoren zu erhalten.

Als weiteres Beispiel für eine Analyse der Nichtlinearität sind in Abb. 6.7.2 der mit FIS ermittelte Amplituden- und Phasen-Frequenzgang für das Waldbrettspiel P.a. dargestellt.

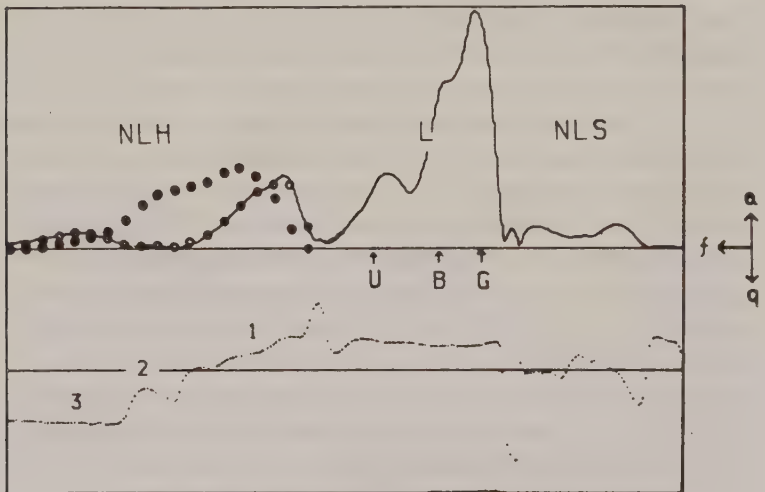


Abb. 6.7.2: Vollständiges Ergebnis der FIS-Analyse von *Pararge aegeria* bei UV/Blau-betontem Reizlicht;
 NLH: Obere Nichtlinearitäten ; L: Lineare Antwort ; NLS: Untere Nichtlinearitäten, hier durch einen Hochpass beschnitten ;
 G, B, U: Spektrallagen der Farben Grün, Blau, UV ;
 a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ; q: Phase ;
 Kreise: Nach Annahme von 3 Rezeptoren errechnete Nichtlinearität ;
 (Näheres siehe Text)

Auch bei P.a. führt, wie zu erwarten, die Berechnung der Nichtlinearität aus der vollständigen linearen Antwort zu keinem befriedigenden Ergebnis (Punkte-Darstellung). Erst die Annahme der drei aufgrund der Rechner-Simulation vermuteten Rhodopsine als Berechnungs-Grundlage führt zu einer guten Übereinstimmung. Dies gilt auch für den Blau/UV-Bereich, der hier aus Darstellungsgründen an der Grenze der zeichnerischen Auflösbarkeit liegt.

Auch bei P.a. wird somit das früher vermutete Ergebnis durch die Analyse der nichtlinearen Amplitudenreaktion qualitativ bewiesen.

Das Vorliegen dreier getrennter Rezeptorsysteme (im Fall von P.a.) wird zusätzlich noch durch die nichtlineare Phasenreaktion bestätigt. Diese zeigt drei Abschnitte, die mit der nichtlinearen Reaktion des ersten (= 1), des zweiten (= 2) und des dritten (= 3) Rezeptors zusammenfallen.

Dieses Ergebnis ist nicht verwunderlich, wenn man die Aussagen von Kapitel 5.6 berücksichtigt. Dort wurde die große Variabilität der Phasenlage von 1. Oberschwingung bezüglich der Grundschwingung diskutiert. Der Effekt zeigt sich nun im Phasen-Spektrum von P.a.: Während im Bereich der linearen Antwort eine annähernde Gleichphasigkeit vorliegt, ist sie für die nichtlineare Antwort verschieden in Abhängigkeit der drei Untersysteme. Wie schon im Kapitel 5.6 besprochen, sind die Ursachen dafür komplex und im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht deutbar. Das Ergebnis in Abb. 6.7.2 macht jedoch deutlich, daß sich dieser Effekt empirisch zur Systemanalyse einsetzen läßt.

Das bestätigt auch der Phasenverlauf bei P.b. Er läßt die vier unterschiedlichen Rezeptoren erkennen, auch wenn spektrale Überlappungen die Phasen-Übergänge zwischen den einzelnen Rezeptorsystemen (genauer: zwischen ihren überlappenden nichtlinearen Antworten) verschmieren.

Eine sinnvolle Auswertung der (nichtlinearen) Phasenreaktion wird zusätzlich noch durch weitere Effekte erschwert: Dies sind zum einen die "zufälligen" Phasenlagen im Bereich kleiner Amplituden, die durch Störungen und Rauschen verursacht werden. Zum ande-

ren könnten auch spektral benachbarte Rezeptoren die gleichen nichtlinearen Phasen aufweisen und somit ein einheitliches System vortäuschen.

Aufgrund obiger Aussagen ist die Analyse der nichtlinearen Phasenantwort im allgemeinen erst dann sinnvoll, wenn sie im Zusammenhang mit anderen Ergebnissen (nichtlineare Amplituden-Reaktion, Näherungsrechnungen, chromatische Adaptation) gesehen wird.

Zusammenfassend soll festgehalten werden:

Die Analyse der nichtlinearen Amplituden- und Phasen-Reaktion liefert zusätzliche Information über das untersuchte System:

Die nichtlineare Amplituden-Reaktion ist eine Folge der Frequenz-Mischung verschiedenfarbiger Spektralkomponenten an einer verzerrten Systemkennlinie. Dabei können sich nur diejenigen Frequenzanteile untereinander mischen, die durch eine Systemeinheit perzipiert werden. Ein Rezeptorsystem mit z. B. vier spektral unterschiedlichen Rezeptoren liefert somit vier verschiedene Nichtlinearitäten, die sich zur meßbaren Summenantwort superponieren. Der Fall einer sich erst addierenden spektralen Empfindlichkeit verschiedener Rezeptoren und anschließender Verzerrung führt zu einem abweichenden Ergebnis. Diese Abweichung ermöglicht es auch bei ERG-Messungen, mittels Analyse der nichtlinearen Amplitudenreaktion die Anzahl spektral unterschiedlicher Rezeptor-Systeme zu bestimmen. Damit ist eine effiziente Methode gegeben, um die aus den ERG-Messungen durch Näherungsverfahren und chromatische Adaptationsexperimente vermuteten Rezeptor-Strukturen zu überprüfen und gegebenenfalls zu widerlegen. Im Fall der Schmetterlinge *Pieris brassicae* und *Pararge aegeria* wurden die vermuteten Rezeptor-Strukturen bestätigt.

Eine zusätzliche Bestätigung kann die Rezeptor-Struktur noch durch den nichtlinearen Phasengang erfahren. Er zeigt die Phasenlage der nichtlinearen Frequenzanteile. Die experimentellen Befunde lassen erkennen, daß diese nichtlineare Phasen-Reaktion für die verschiedenen Rezeptoren unterschiedlich ist. Andererseits kann somit anhand des Phasen-Verlaufes im nichtlinearen Frequenz-Spektrum auf die Anzahl der vorhandenen Rezeptor-Systeme geschlossen werden. Dabei ist jedoch die Phasen-Verzerrung in den spektralen Überlappungszonen der Rezeptoren (genauer: ihrer Nichtlinearitäten) zu beachten, die durch die Vektor-Addition der verschiedenen Phasen verursacht wird. Sie kann die Bestimmung der System-

Einheiten aus der nichtlinearen Phase erschweren.

Weiterhin ist denkbar, daß spektral benachbarte Rezeptoren die gleichen Phasenlagen ihrer nichtlinearen Antwort erzeugen. Dann wäre eine Systemauftrennung durch die Phasenantwort nicht mehr möglich. In Verbindung mit den Ergebnissen jedoch, die sich aus der nichtlinearen Amplituden-Analyse ergeben, kann der Phasen-Verlauf in jedem Fall als bestätigendes (oder gegebenenfalls widerlegendes) Kriterium verwendet werden.

Darüber hinaus kann das Phasen-Frequenzspektrum durchaus noch wesentliche Informationen liefern. Das soll im nächsten Kapitel am Beispiel einer FIS-Untersuchung gezeigt werden, die an der Schmeißfliege C.e. durchgeführt wurde.

6.8 Die FIS-Analyse von Nichtlinearität und Phase bei Calliphora erythrocephala

Die SE der Schmeißfliege C.e. wurde von verschiedenen Autoren elektrophysiologisch untersucht (u. a. Burkhard, 1962; Meffert, 1977; Paul, 1981 (FIS-Methode)). Die dabei gewonnenen Ergebnisse zeigen übereinstimmend für die Rezeptorgruppe R1 - 6 eine 2-gipflige Spektralkurve mit den Maxima bei 490 nm und 350 nm. Diese Absorptionsmaxima sind sowohl bei extrazellulären als auch bei intrazellulären Ableitungen annähernd gleich hoch.

Als Ursache für die Absorption im Sichtbaren konnte mikrophotometrisch ein Rhodopsin nachgewiesen werden (Langer und Thorell, 1966). Dagegen ist die hohe Empfindlichkeit im UV seit Jahren Gegenstand heftiger Diskussionen und Spekulationen.

Während /Horridge und Mimura, 1975/ die These zweier visueller Pigmente im Photorezeptor der Gruppe R1 - 6 vertraten, die räumlich unterschiedlich angeordnet sein sollten¹⁾, wird heute allgemein die Ansicht von /Kirschfeld, Franceschini, Minke, 1977/ akzeptiert. Die-

1) Mimura ist auch heute noch dieser Ansicht (Mimura, mündliche Mitteilung im Rahmen eines Seminars im Haus, Dez. 1983)

se Autoren nehmen an, daß ein Satelliten-Pigment (sensitizing pigment; sp) im UV absorbiert und seine Energie auf das Sichtbar-Rhodopsin überträgt.

Die Hypothese des sp wird durch die FIS-Untersuchungen von /Paul, 1981/ gestützt. Aufgrund der methodischen Vorteile von FIS ist es Paul gelungen, in der Spektralkurve im UV-Bereich eine Feinstruktur zu entdecken¹⁾. Unter dem Vorbehalt einer nur unstrukturierten Filterwirkung anderer optisch wirksamer Rezeptor-Komponenten beweist die Feinstruktur, daß die UV-Empfindlichkeit nicht durch ein Rhodopsin erzeugt werden kann. Aufgrund des experimentell ermittelten spektralen Verlaufs ist es eher wahrscheinlich, daß ein Retinol als sp im UV-Spektralbereich absorbiert und in einen angeregten Energie-Zustand übergeht. Als Mechanismen für die weitere Reaktion wird die Hypothese favorisiert, daß diese Aktivierungsenergie durch die Förstersche Energie-Kopplung auf das Rhodopsin übertragen und damit aktionsspektrometrisch wirksam werden kann.

Ob diese Annahme jedoch gerechtfertigt ist, muß aufgrund der im folgenden beschriebenen FIS-Untersuchungen bezweifelt werden. Wie hier gezeigt werden wird, stehen die durch die Phasen-Auswertung gewonnenen Ergebnisse im Widerspruch zur Hypothese eines schnellen Energie-Transfers.

In Abb. 6.8.1 sind die Fourier-analytisch ermittelten Rohspektralkurven einer intrazellulären FIS-Untersuchung bei C.e. dargestellt. Das Amplituden-Frequenz-Spektrum zeigt in seiner linearen Antwort (L) die noch unkorrigierte SE mit einem (durch das Reizlichtspektrum strukturierten) Maximum im Sichtbaren und einem Neben-Maximum im UV, welches in seinem spektralen Verlauf durch die antwortbedingte Feinstruktur (F) modifiziert ist.

Bezüglich der Auswertung der nichtlinearen Antwort (NLH), erhält man bei C.e. ein Ergebnis, welches von den Resultaten der Schmetterlingsuntersuchungen abweicht, jedoch andererseits sehr schön die Effektivität dieser nichtlinearen Analyse zeigt: Wie aus Abb. 6.8.1

1) In letzter Zeit gelang es auch anderen Autoren, diese Feinstruktur nachzuweisen (Kirschfeld et al., 1983)

ersichtlich, fallen die Fourier-analytisch ermittelte und die (durch Punkte dargestellte) aus der linearen Spektralantwort berechnete Nichtlinearität im Rahmen der Meßgenauigkeit gut zusammen. Diese Übereinstimmung deutet darauf hin, daß nur ein gemeinsames nichtlineares System in der Rezeptor-Struktur wirksam ist.

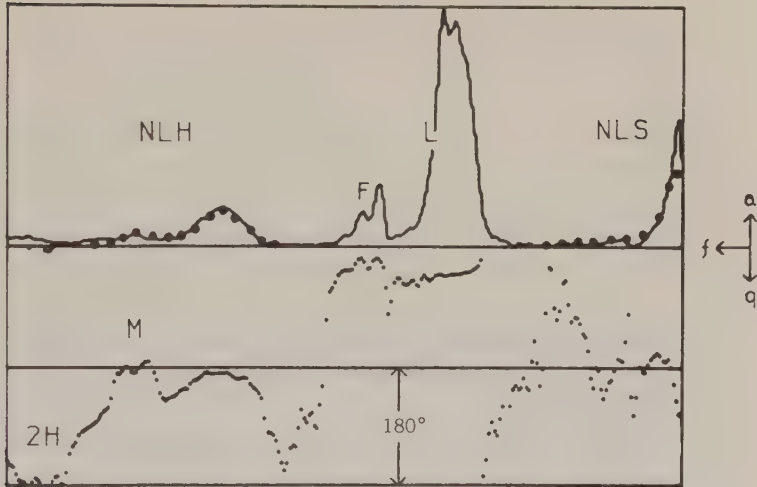


Abb. 6.8.1: Vollständiges Ergebnis der FIS-Analyse von *Calliphora erythrocephala* (intrazelluläre Ableitung); NLH: Obere Nichtlinearitäten ; L: Lineare Antwort ; NLS: Untere Nichtlinearitäten ; F: Feinstruktur im UV ; a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ; q: Phase ; (Näheres siehe Text) Eine zunehmende Verzögerung verschiebt die Phasenpunkte nach oben ; Die Reizfrequenz bei F beträgt ca. 8 Hz ;

Sowohl die Zwei-Pigment-Theorie als auch die sp-Hypothese gehen davon aus, daß die lichtsensitiven Pigmente in einer Zelle vorliegen. Außerdem wird angenommen (siehe Kapitel 5.2), daß nicht der Absorptionsprozess, sondern die Membranreaktion für die nichtlineare Reaktion verantwortlich ist.

Beide Annahmen werden durch die Untersuchung der Nichtlinearität bestätigt. Unabhängig davon, wie die Absorptionsprozesse im Sichtbaren und UV detailliert ablaufen, läßt sich feststellen, daß sie lineare Vorgänge sein müssen, die über die gleiche, gemeinsame

Nichtlinearität die elektrisch meßbare Rezeptor-Antwort erzeugen. Dieser Befund verträgt sich sowohl mit der Annahme von zwei getrennt auf die Zellmembran wirkenden Photopigmenten als auch mit der sp-Hypothese, wenn die Nichtlinearität dem Membran-Prozess zugeordnet ist.

Die zumindest theoretisch denkbare Möglichkeit zweier völlig getrennt wirkender Rezeptorsysteme in einer Zelle wird durch die Untersuchung der nichtlinearen Antwort ausgeschlossen.

Eine weiterführende Analyse der Rezeptorstruktur ist durch den spektralen Phasengang möglich. Das Phasen-Spektrum in Abb. 6.8.1 zeigt im UV eine für C.e. typische Struktur, die mit der Feinstruktur des Amplitudenverlaufes korreliert ist. Diese Phasen-Struktur tritt noch an zwei weiteren Stellen des Phasen-Spektrums auf: Einmal ist sie bei der doppelten Frequenz (2. Harmonische) zu erkennen. In dem durch "2H" gekennzeichneten Spektralbereich ist die dazugehörige Antwort-Amplitude allerdings relativ klein; eine zufällige Streuung der Phasenwerte in Form der Wellenstruktur ist deshalb nicht völlig ausgeschlossen.

Die 2. Spektralstelle mit wellenförmig strukturierter Phase ist durch die maximale Frequenz-Mischung zwischen den Sichtbar- und UV-Komponenten gegeben; sie ist mit "M" bezeichnet. Hier hebt sich die Amplituden-Antwort stärker aus dem Rauschpegel, so daß der Phasenreaktion eine ausreichende Signifikanz zugeordnet werden kann.

Analysiert man die lineare Phasen-Antwort und vernachlässigt dabei die Welligkeit als "Rauschen" der ermittelten Phasenwerte, bleibt dennoch eine merkliche Phasendifferenz zwischen der Sichtbar- und UV-Reaktion bestehen. Dieses Ergebnis ist interessant, denn es widerspricht der These der Förster-Kopplung: Aus dem Fourier-analytisch gewonnenen Phasenspektrum ergibt sich für die beiden Spektralreaktionen ein Latenzzeit-Unterschied, der im ms-Bereich liegt. Der Förstersche Energie-Transfer würde jedoch nur eine Verzögerung von größenmäßig ns bis μ s bedingen (Hoppe et al., 1982). Der experimentelle Befund kann somit nicht durch den Förstermechanismus erklärt werden.

Das FIS-Resultat stützt die Annahme zweier Pigmente, die über

getrennte biochemische Ketten auf die Membran wirken. Damit ließen sich prinzipiell die ermittelten Latenzzeit-Unterschiede in beiden Reaktionsmechanismen erklären. Jedoch wären auch bei Gültigkeit dieser Hypothese das UV-Pigment und seine Folgeprodukte mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht mit einer Rhodopsin-Reaktion identisch. Dagegen spricht einmal die Amplituden-Feinstruktur, zum anderen die Phasen-Differenz selbst. In keinem der anderen (extrazellulär) untersuchten Fälle tritt eine solch spürbare Phasen-Verschiebung in der linearen Antwort auf, auch wenn diese (wie bei den Schmetterlingen) aus der Summenreaktion verschiedener Rezeptor-Einheiten besteht. Der lineare Phasenverlauf ist bei all diesen Messungen annähernd kontinuierlich. Dies läßt auf vergleichbare Latenzzeiten der Einzelrezeptoren schließen, wie es für Systeme mit ähnlichem Aufbau und Zustand (Reaktionsmechanismen, Reizbedingungen) zu erwarten ist.

Unter diesem Gesichtspunkt zeigt der bei C.e. erhaltene Befund, daß es sich hinsichtlich der Reaktions-Kinematik bei der UV- bzw. Sichtbar-Reaktion um unterschiedliche Systeme handeln muß. Dabei kann die Annahme eines Rhodopsins mit einem über Förster-Kopplung wirksamen sp den experimentell ermittelten Phasenverlauf nicht befriedigend erklären.

Bei Berücksichtigung der experimentell gefundenen Phasen-Feinstruktur stellt sich die Frage, wie diese durch das Rezeptor-System erzeugt werden kann. Zur Klärung dieser Problematik dienen folgende Überlegungen, welche auch der obigen Diskussion genügen:

Angenommen werden zwei getrennt auf die Zellmembran wirkende Photopigmente im Sichtbar- und UV-Bereich mit unterschiedlicher Latenzzeit in ihren Reaktionsketten. Als Ursache für die Amplituden-Feinstruktur sind prinzipiell zwei Mechanismen denkbar: Zum einen könnte das UV-Pigment selbst eine strukturierte Empfindlichkeit haben, zum anderen wird sie auch durch die modifizierende Filterwirkung eines photostabilen Pigments (ohne Energieübertragung auf ein Rhodopsin) oder andere optische Rezeptor-Effekte ermöglicht. Die folgende Argumentation soll nun zeigen, daß aufgrund der Phasen-Feinstruktur zwischen beiden Möglichkeiten unterschieden und somit eine umfassende Modell-Vorstellung entwickelt werden kann.

Die Annahme eines Filter-Pigments zur Erzeugung einer Feinstruktur ist nicht unwahrscheinlich. /Kirschfeld, Feiler, Franceschini, 1978/ vermuteten z. B., daß (neben einem UV-absorbierenden akzesorischen Pigment) ein photostabiles blau-absorbierendes Pigment in den Rhabdomeren der Rezeptorzellen R7 vorhanden ist und als Filter wirkt.

Die Amplituden-Reaktion im kurzwelligen Spektralbereich wird bei C.e. durch zwei Komponenten verursacht, da dort neben dem UV-Pigment auch die β -Bande des Blau-Rhodopsins spektral wirksam ist. Haben die beiden Rezeptoreinheiten eine unterschiedliche Latenzzeit, so führt dies zu einer unterschiedlichen Phasenlage der spektralen, sinusförmigen Antwortkomponenten, die durch die FIS-Methode ermittelt werden.

Gemäß der früher abgeleiteten Gleichung 3.4.3 addieren sich die zur gleichen Frequenz gehörigen Phasen amplitudenanteilig und vektoriell zur Summenreaktion. Wenn beide zur UV-Empfindlichkeit beitragenden Systemkomponenten jeweils annähernd spektral konstante Antwortgrößen erzeugen, muß folglich auch die Phase glatt und ohne Feinstruktur sein. Auch ein potentiell photostabiles Filterpigment mit strukturierter Absorption kann nur das Amplitudenspektrum, nicht aber den Phasengang beeinflussen, wenn es auf beide Photopigmente wirkt. Dies folgt aus der prozentual gleichförmigen Abschwächung der Reaktion von UV-Pigment und Rhodopsin-Anteil, die bei der Vektoraddition zur Bestimmung der Phasenresultate ohne Bedeutung ist. Das Phasen-Spektrum wird somit durch das Filterpigment nicht beeinflusst und sollte in diesem Fall nicht den experimentell ermittelten Verlauf aufweisen.

Auch für sich annähernd kontinuierlich ändernde spektrale Empfindlichkeiten der aktionsspektrometrisch wirksamen Anteile gelten ähnliche Überlegungen. Erst wenn man eine dem UV-Pigment inhärente Feinstruktur annimmt, läßt sich der gemessene Phasenverlauf qualitativ erzeugen: Einer näherungsweise konstanten Phasen- und Amplitudenreaktion der β -Bande des Grün-Rhodopsins ist eine 2. Komponente überlagert, deren Phase ebenfalls annähernd spektral unabhängig ist. Die Antwortgröße des UV-Pigments schwankt jedoch gemäß

seiner Feinstruktur. Bei der amplitudenabhängigen Phasenaddition führt die Schwankung zu einer gleichsinnigen Struktur im Phasenverlauf. Dies stimmt mit den experimentellen Befunden überein.

Aufgrund der vorstehenden Überlegungen ist es somit sehr wahrscheinlich, daß ein spektral strukturierter und ein glatter Reaktionsanteil mit verschiedenen Latenzzeiten zur mit FIS ermittelten UV-Antwort der Schweißfliege beitragen. Dieser Befund paßt gut zu dem Modell, daß in den Rezeptorzellen R1 bis R6 ein hauptsächlich grün absorbierendes Rhodopsin und ein weiteres UV-Photopigment vorliegen, welches eine Retinol-ähnliche Feinstruktur aufweist (Paul, 1981). Die Annahme, daß dieses UV-Pigment als Satelliten-Pigment über die Förstersche Energie-Kopplung wirksam wird, ist nicht mit den hier vorgestellten FIS-Ergebnissen verträglich und muß deshalb neu überdacht werden.

Eine mögliche Erklärung der experimentellen Resultate wäre die oben angesprochene Zwei-Pigment-Hypothese. Sie kann auch in Einklang mit den Befunden zur Polarisations-Empfindlichkeit (PS) der Rezeptoren gebracht werden. /Kuo, 1979/ hat in Übereinstimmung mit /Langer, 1965/ eine nur sehr geringe bzw. keine PS im UV-Spektralbereich elektrophysiologisch ermittelt, während im Grün-Bereich eine deutliche PS meßbar ist. Diese unterschiedlichen Reaktionen werden von /Kuo, 1979/ durch die sp-Hypothese erklärt. Danach zeigt das sp keinen Dichroismus und wirkt deshalb nicht selektiv auf eine bestimmte Polarisation. Die fehlende oder nur geringe UV-PS ist somit leicht deutbar, wenn man zusätzlich berücksichtigt, daß eine Rest-Reaktion durch die β -Bande des dichroitischen Rhodopsins entstehen kann. Der Befund der fehlenden PS im UV widerspricht jedoch nicht der Annahme zweier getrennter, absorbierender Mechanismen. Auch dabei ist prinzipiell die Annahme eines polarisations-unempfindlichen UV-Pigments möglich.

Gegen die Zwei-Pigment- und für die sp-Hypothese sprechend wird oft die schon von /Burkhard, 1962/ beschriebene fehlende chromatinsche Adaptierbarkeit der beiden Empfindlichkeitsmaxima gewertet (Meffert, 1977; Paul, 1981). Im Gegensatz zu den bei den Schmetterlingen gemachten Beobachtungen ist eine relative Verschiebung der

spektralen Antwortgrößen bei C.e. unter chromatischer Adaptation nicht möglich. Dies wäre beim Vorliegen eines nichtbleichbaren s_p zu erwarten. Wie /Kirschfeld, 1979/ jedoch ausführt, wird der Hauptbeitrag zur Adaptation nicht durch eine Rhodopsin-Bleichung sondern durch einen Membran-Prozess erzeugt. Unter der plausiblen Annahme, daß zwei potentielle Pigmente die gleiche Membranreaktion hervorrufen¹⁾, folgert der Autor eine gleichmäßige Auswirkung der chromatischen Adaptation durch eine alle Spektralanteile betreffende Empfindlichkeitsreduktion der Membran. Eine Relativ-Änderung der spektralen Antwortgrößen aufgrund einer Verschiebung des Rhodopsin-Pegels ist nach Kirschfeld höchstens im %-Bereich zu erwarten. Dabei muß man noch berücksichtigen, daß im UV wirkendes Adaptationslicht wegen der β -Bande auch vom Grün-Rhodopsin absorbiert wird. Eine Adaptation im längerwelligen Spektralbereich trifft andererseits merklich das Metarhodopsin, dessen maximale Absorption nach /Hamdorf, 1979/ bei ca. 550 nm liegt. Beide Effekte arbeiten somit einer möglichen chromatischen Adaptation entgegen.

Aus den vorstehend genannten Gründen ist es daher wahrscheinlich, daß Experimente mit chromatischem Zusatzlicht im Rahmen der Meßgenauigkeit keine Unterschiede hinsichtlich der Relativ-Amplituden liefern, auch wenn anstelle des s_p zwei getrennte Photopigmente vorliegen würden. Insbesondere wären in keinem Fall mit den Schmetterlingsexperimenten vergleichbare Adaptationseffekte zu erwarten, die auf einer unterschiedlichen Membran-Adaptation beruhen.

An dieser Stelle sei noch angemerkt, daß /Rosner, 1975/ experimentell eine chromatische Adaptierbarkeit der Sichtbar- und UV-Reaktion bei C.e. nachgewiesen hat. Wie sich dessen Ergebnisse mit der von der Mehrzahl der Autoren festgestellten Unadaptierbarkeit vertragen, kann hier nicht geklärt werden. Eventuell wäre es sinnvoll, noch einmal ausführliche und quantitative Adaptationsexperimente mit der FIS-Methode durchzuführen, da aufgrund ihrer Güte auch Abweichungen im %-Bereich ermittelbar sein müßten.

Wenn sich auch die Befunde der Polarisationsexperimente und der

1) Dies bestätigt die durchgeführte nichtlineare Amplituden-Analyse.

chromatischen Adaptation im Rahmen der Hypothese zweier getrennt wirksamer Pigmente deuten lassen, sprechen dennoch verschiedene Untersuchungsergebnisse für die Richtigkeit der Annahme eines Antennenpigment-Systems. So konnten z. B. /Kirschfeld et al., 1977/ zeigen, daß ein UV-Stimulus zum gleichen Metarhodopsin wie ein Blau-Reiz führt, wobei die UV-Extinktion nicht abnimmt. Zusätzlich hat das Metarhodopsin eine hohe UV-Absorption, die aus einer Überlagerung eines sp mit der Metarhodopsin-Absorption abgeleitet werden kann (Minke und Kirschfeld, 1979).

Eine Überstimmung dieser Resultate mit den hier vorgestellten FIS-Ergebnissen läßt sich dann erreichen, wenn ein relativ langsamer Mechanismus des Energietransfers anstelle der schnellen Förster-Kopplung postuliert wird. Eine Transferzeit von einigen Millisekunden ist jedoch für einen elektromagnetischen- oder Fluoreszenz-Prozess sehr unwahrscheinlich. Diese Verzögerungen sind eher bei biochemischen Reaktionen denkbar.

Genauere Aussagen hinsichtlich der Latenzzeit-Differenz sind eventuell durch eine quantitative Analyse der FIS-Resultate möglich. So könnte z. B. der experimentelle Befund durch die Modellannahme zweier Systeme mit verschiedenen Zeitkonstanten simuliert werden. Auch die nichtlineare Phasenstruktur an den Spektralstellen der 2. Harmonischen und der Frequenzmischung zweier UV- und Sichtbarkomponenten, die hier nicht weiter betrachtet wird, sollte sich aufgrund der in dieser Arbeit beschriebenen Grundlagen errechnen lassen. Dabei könnten vielleicht weitere nützliche Ergebnisse erhalten werden.

Zusammenfassend bleibt somit am Ende dieses Kapitels folgendes festzuhalten:

Die Auswertung der zusätzlichen FIS-Informationen (nicht-lineare Amplitude und Phase) bringt bei *Calliphora erythrocephala* interessante Ergebnisse:

Die Analyse der Nichtlinearität zeigt, daß sie nur durch eine verzerrende Kennlinie entsteht, obwohl die Spektralkurve von C.e. sich nicht mit einem Photopigment allein beschreiben läßt. Aufgrund der intrazellulären

Ableitung kann man daraus folgern, daß, wie schon früher angenommen, nicht der Absorptionsprozess sondern die Membranreaktion nichtlinear ist. Dann führt auch die Antwort von verschiedenen, in der gleichen Zelle vorliegenden Photopigmenten zu einer gemeinsamen Nichtlinearität.

Zur Beschreibung der experimentell ermittelten SE werden hauptsächlich zwei Möglichkeiten diskutiert: Die eine ist die Zwei-Pigment-Hypothese, die das Vorliegen zweier getrennt auf die Membran wirkender Pigmente postuliert. Die heute allgemein gängigere Satelliten-Pigment-Hypothese fordert ein im UV empfindliches Antennen-Molekül, welches durch Quanten-Absorption angeregt und über einen Energietransfer-Mechanismus zum Rhodopsin aktionsspektrometrisch wirksam wird.

Als mögliche Art der Energie-Übertragung wird dabei die Förster-Kopplung (elektromechanische Wechselwirkung) diskutiert. Die Annahme eines Antennen-Pigments wird durch verschiedene Experimente gestützt.

Die Phasen-Auswertung der FIS-Untersuchung bringt hierzu neue Aspekte. Neben einer mit dem schon früher ermittelten Amplitudenverlauf korrelierten Phasen-Feinstruktur im UV ist die Reaktion in diesem Spektralbereich um Millisekunden gegenüber dem Sichtbaren verzögert. Die relativ große Reizverzögerung wäre mit der Zwei-Pigment-Hypothese vereinbar unter der Annahme, daß verschiedene schnelle biochemische Reaktions-Ketten ablaufen.

Beim Festhalten an der Satelliten-Pigment-Hypothese muß die Annahme der Försterschen Energie-Kopplung fallen gelassen werden, da sie um Größenordnungen schneller erfolgt. Die vom Antennen-Pigment absorbierte Energie müßte dann in noch unbekannter Weise in einem langsamen Prozess zum Rhodopsin transferiert werden.

Nebenbei bestätigt der mit der Amplituden-Feinstruktur korrelierte Phasenverlauf die Annahme einer pigmentinhärenten Strukturierung des Absorptionsspektrums. Genau dann ist die experimentell ermittelte Phasenwelligkeit qualitativ erklärbar.

Abschließend sei noch einmal angemerkt, daß die hier vorgestellten Ergebnisse auf jeden Fall quantitativ weiter analysiert werden sollten. Mit großer Wahrscheinlichkeit ergibt die quantitative Analyse zusätzliche Aspekte, die zur weiteren Aufklärung des Photopigment-Systems in den Sehzellen von C.e. beitragen können.

6.9 Die FIS-Analyse von Nichtlinearität und Phase beim Menschen

Die beiden vorangehenden Kapitel haben gezeigt, daß nicht nur die Bestimmung der spektralen Empfindlichkeit mittels FIS interessante Ergebnisse liefert. Auch die Untersuchungen der nichtlinearen Amplituden- und der Phasenreaktion, die bei FIS als Zusatzinformation anfallen, kann wertvolle Aufschlüsse über Rezeptorsysteme und deren Eigenschaften geben.

Die Analyse von Nichtlinearität und Phase, deren Grundlagen hier erarbeitet wurden, könnten besonders bedeutsam für die FIS-Untersuchungen beim Menschen werden und eventuell eine nützliche Anwendung im Bereich der Augenmedizin erlangen. Deshalb sollen als Abschluß und Ausblick dieser Arbeit beispielhaft zwei Resultate von Humanexperimenten dargestellt werden.

Die FIS-Anwendung zur Humanuntersuchung wurde an verschiedenen Stellen beschrieben (Gemperlein, 1980; Gemperlein, 1982a; Gemperlein, Adamczyk, 1982; Gemperlein et al., 1983; Adamczyk et al., 1983). Sie beschränkte sich bisher neben psycho-physischen Experimenten (Barlow et al., 1983) hauptsächlich auf die aktionsspektrometrische elektrophysiologische Bestimmung der spektralen Empfindlichkeitsfunktion. Dazu wird die elektrisch meßbare Augenreaktion im allgemeinen mit einer Haftschalen-ähnlichen Elektrode von der Cornea abgegriffen. Durch Mittelung lassen sich dann die mit dem Stimulus korrelierten Antwort-Anteile retinalen Ursprungs herausfiltern. Eine ausführliche Beschreibung zur Methode findet sich in /Adamczyk et al., 1983/ und /Gemperlein et al., 1983/.

Die aus dem ERG-Signal ermittelte SE wird aufgrund des komplexen Retinaaufbaus mit vielen Verschaltungen (Amakrin-, Horizontal-, Bipolarzellen) in stärkerem Maße (besonders beim Tagesssehen (photopische Bedingungen)) modifiziert. Sie spiegelt nicht mehr überwiegend die Reaktion der Rezeptoren wider, wie es bei den Insekten-Ableitungen mit Einstichelektroden der Fall war. Dies zeigen Ergebnisse in /Adamczyk et al., 1983/. Die dort dargestellten SE-Kurven weisen Strukturierungen auf, die sich nicht durch eine Superposition von Zapfen- und Stäbchen-Empfindlichkeiten nähern lassen.

Obwohl die bisherigen SE-Untersuchungen mittels FIS schon interessante Effekte bei Intensitätsveränderungen und chromatischer Adaptation zeigen (Paul, 1983), und für die klinische Augendiagnostik relevante Unterschiede bei Farb- und Retinaanomalien bringen (Adamczyk, 1983), war bisher eine über die empirische Deutung hinausgehende Analyse der Ergebnisse nur schwer und äußerst spekulativ möglich.

Eine erneute Auswertung der bereits vorliegenden Daten kann nun unter Berücksichtigung von Nichtlinearität und Phase erfolgen. Diese Untersuchungen sind vor allem deshalb interessant, da sich z. B. die Nichtlinearität von Normal- und Farbfehlsichtigen sehr stark unterscheidet (eigene Beobachtung, unveröffentlicht). Weiterhin treten bei Personen, die mit den herkömmlichen diagnostischen Methoden der Augenmedizin als normalsichtig eingestuft werden, individuelle Unterschiede in der nichtlinearen Antwort auf, deren Ursachen unbekannt sind (eigene Beobachtung, unveröffentlicht).

Im folgenden sollen zwei Human-Ergebnisse in ihrer Roh-Darstellung vorgestellt werden. Unter dem Vorbehalt einer ersten Spekulation mit weitestgehend qualitativem Charakter werden dabei Nichtlinearität und Phase analysiert. Beide Messungen wurden bei der als Normal-Typ eingestuften Versuchsperson Ad durchgeführt.

Abb. 6.9.1 zeigt die Rohkurven der FIS-Untersuchungen bei skotopischen Beleuchtungsbedingungen (Dämmerungssehen). Die lineare Amplitudenantwort ("L") ist glatt und ergibt nach der Lampenkorrektur die auch mit herkömmlichen Methoden ermittelbare Stäbchen-Empfindlichkeit. Sie fällt befriedigend mit der aus Lehrbüchern (z. B. Trendelenburg, Schütz, 1961) bekannten Empfindlichkeitskurve zusammen.

Der niederfrequente Bereich der Subharmonischen ist durch ein elektrisches Filter stark beschnitten. Er wird deshalb im folgenden nicht berücksichtigt.

Die nichtlineare Reaktion ("NL") ist verhältnismäßig gering und könnte im Rauschen begründet sein. Auffällig ist jedoch die dazugehörige Phasenstruktur, die wesentlich störfreier als im unteren Frequenzbereich erscheint.

Noch ein weiterer Befund spricht für die Signifikanz der Nicht-linearität: Diese Reaktion setzt sich aus zwei Maxima zusammen, die in der Abbildung mit a' und b' bezeichnet sind. Gemäß den früheren Überlegungen zur Entstehung der nichtlinearen Reaktion müssen in der linearen Antwort zwei getrennte Wechselwirkungs-Bereiche existieren. Deren ungefähre Maximallagen sind mit a bzw. b markiert. Berücksichtigt man die Phase der linearen Reaktion, so fallen die Marken gut mit zwei unterschiedlichen Phasenlagen zusammen, die im experimentellen Ergebnis zu beobachten sind. Dies stützt ebenfalls die Annahme, daß die Struktur der Nichtlinearität nicht auf Rauschen zurückzuführen ist. Ordnet man den Spektrallagen a' und b' jeweils eine mittlere Phase zu, so erkennt man, daß diese sich um ca. 180° unterscheiden, wie es auch bei einer Signal-Inversion der Fall wäre.

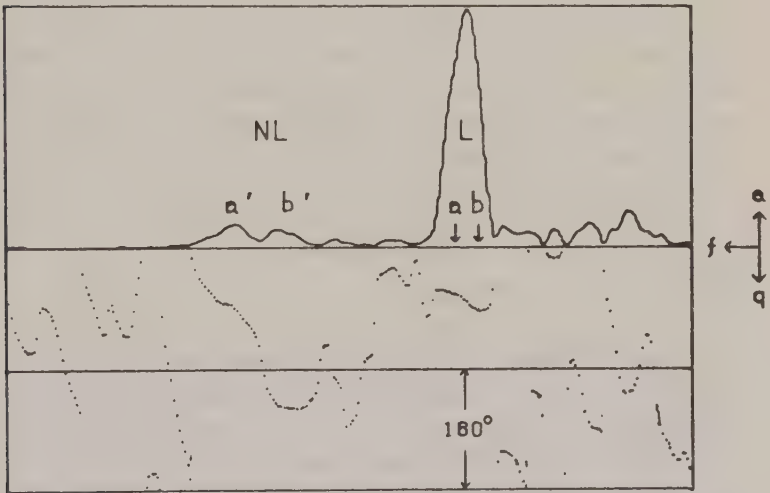


Abb. 6.9.1: Vollständiges Ergebnis der FIS-Analyse beim Menschen unter skotopischen Beleuchtungsbedingungen;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz (Ursprung rechts, lineare Skala)
Das Amplitudenspektrum ist bei niedrigen Frequenzen durch einen Hochpass beschnitten; q: Phase ;
(Näheres siehe Text)

Aufgrund obiger Feststellungen läßt sich somit das in Abb. 6.9.1 dargestellte Ergebnis wie folgt deuten:

Die lineare Antwort muß durch mindestens zwei Rezeptor¹⁾-Strukturen erzeugt werden, deren Maxima ungefähr mit den Marken a und b zusammenfallen. Nimmt man zusätzlich noch an, daß die Verzerrung der Rezeptor-Signale größenordnungsmäßig gleich ist, muß aufgrund der vergleichbaren nichtlinearen Amplituden a' und b' davon ausgegangen werden, daß neben zwei bei a und b liegenden Komponenten ähnlicher Amplitude noch ein dritter nur linear wirkender Anteil zur linearen Antwort beiträgt. Er sollte frequenzmäßig nach a verschoben sein, da dort die lineare Summenamplitude ihr Maximum erreicht.

Mit dieser Linear-Komponente wäre auch der lineare bzw. nicht-lineare Phasenverlauf erklärbar. Aufgrund des nichtlinearen Phasenunterschiedes von annähernd 180° kann man eine Signalinversion vermuten, die auch die lineare Reaktion betreffen sollte. Liegt jedoch im Grundfrequenzband eine starke zusätzliche Komponente vor, deren annähernd konstante Phase berücksichtigt werden muß, so kann der 180° -Phasensprung zwischen den schwachen Komponenten aufgrund der Phasenaddition weitestgehend verdeckt werden. Dies stimmt mit dem in Abb. 6.9.1 dargestellten Befund überein.

Die vorstehend getroffenen Aussagen mögen einem nicht mit diesem Analyseverfahren vertrauten Leser zu spekulativ erscheinen. Ihre Richtigkeit wird jedoch durch Abb. 6.9.2 bestätigt.

In Abb. 6.9.2 ist ein Ergebnis dargestellt, daß im Vergleich mit Abb. 6.9.1 bei höherer Reizintensität gewonnen wurde. Deutlich erkennbar ist die auch mit herkömmlichen Methoden feststellbare Verschiebung der maximalen Empfindlichkeit zu längeren Wellenlängen bei photopischen Beleuchtungsbedingungen (Purkinje-Shift). Weiterhin auffällig sind vor allem eine starke Strukturierung der linearen Antwort und eine hohe nichtlineare Reaktion. Mit der Amplitude korreliert ist der Phasenverlauf, der sich mit seinen starken

1) Der Begriff "Rezeptor" wird im Sinne eines rezeptiven Systems gebraucht.

Schwankungen von den Befunden der Evertibraten-Untersuchungen drastisch unterscheidet.

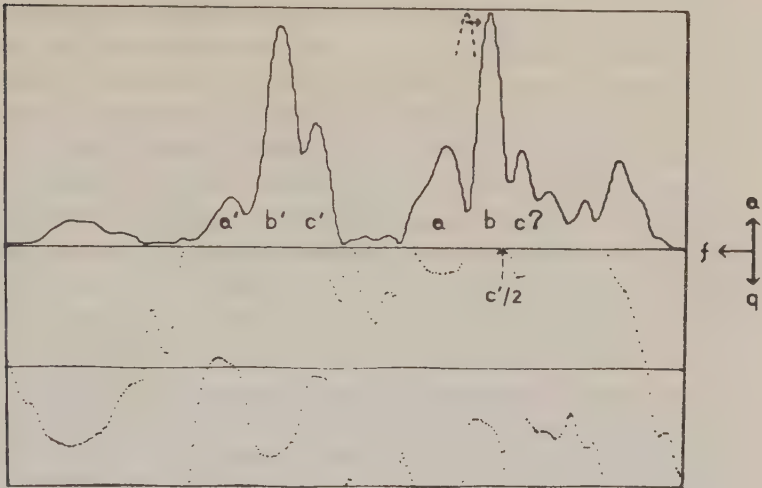


Abb. 6.9.2: Vollständiges Ergebnis der FIS-Analyse beim Menschen unter photopischen Beleuchtungsbedingungen;
a: Relative Amplitude ; f: Frequenz ; q: Phase ;
Das Amplitudenspektrum ist bei niedrigen Frequenzen durch einen Hochpass beschnitten ;
Gestrichelt: Maximallage aus Abb. 6.9.1 ; (Näheres siehe Text)

Dieses Ergebnis soll im folgenden mit Bezug auf Abb. 6.9.1 diskutiert werden:

Die Strukturen a' und b' bzw. a und b können qualitativ befriedigend den gleichnamigen Markierungen in Abb. 6.9.1 zugeordnet werden. Insbesondere gelingt es also unter photopischen Bedingungen, die vorher aufgrund der Analyse von Phase und Nichtlinearität postulierte Rezeptor-Struktur aufzuspalten. Die Amplitude der beiden linearen Komponenten a und b stehen dabei im ähnlichen Verhältnis wie die Beiträge ihrer Nichtlinearitäten. Die früher vermutete nur linear wirkende dritte Komponente scheint somit stark reduziert zu sein. Wenn dieser Anteil, wie aus Abb. 6.9.1 abgeleitet, einen 180°-Phasensprung verdeckt, sollte der nun deutlich erkennbar werden.

Das wird durch Abb. 6.9.2 bestätigt. Der Phasenunterschied zwischen den Marken a und b beträgt fast 180° .

Die nichtlineare Phasenstruktur hat sich zwischen den Messungen nur in ihrer Absolutlage verschoben. Die relative Form ist (bis auf das kurzweilige Ende) zwischen den Abbildungen qualitativ deckungsgleich. Dies spricht ebenfalls dafür, daß der postulierte dritte Rezeptoranteil im Bereich der Nichtlinearität unwirksam ist.

Bisher noch nicht erwähnt wurde die mit c' bezeichnete nichtlineare Struktur, obwohl sie rückblickend aufgrund des ähnlichen Phasenverlaufes nun auch in Abb. 6.9.1 erkennbar scheint. Ob der Marke c' in der linearen Reaktion das mit c gekennzeichnete Maximum zugeordnet ist, könnte allein aufgrund der qualitativen Betrachtung bezweifelt werden; frequenzmäßig liegt c signifikant niedriger als bei dem durch $c/2$ gegebenen Punkt. Allerdings muß berücksichtigt werden, daß das Maximum c' eventuell durch die Schulter von a' zu höheren Frequenzen verschoben erscheint. Zusätzlich würde auch eine Asymmetrie im spektralen Verlauf der Rezeptoreinheit c ähnlich der Absorptionskurve eines Rhodopsins die Lage von c' in der beobachteten Weise modifizieren. Ob diese Vermutungen zutreffend sind, läßt sich möglicherweise durch genauere Untersuchungen der Nichtlinearität und quantitative Modellrechnungen zeigen. Auch chromatische Adaptationsexperimente könnten die linearen und nichtlinearen Reaktionen korrelieren.

Aufgrund des Phasenverlaufes ist es letztlich wahrscheinlich, daß die spektrale Reaktion c der Nichtlinearität c' zugeordnet ist. Unter dieser Annahme ergibt sich zusammenfassend folgendes Bild für die Rezeptor-Struktur:

Unter skotopischen Beleuchtungsbedingungen wird die Spektralempfindlichkeit hauptsächlich durch eine rezeptive Komponente geprägt, die keine oder nur eine geringe Nichtlinearität in ihren Übertragungseigenschaften hat. Diese Komponente wird unter photopischen Bedingungen anteilig stark gedämpft. Die spektrale Reaktion wird dann in erster Linie durch drei rezeptive Systeme erzeugt, die jeweils stark nichtlinear sind. Phasenmäßig liefern spektral benachbarte Rezeptoreinheiten zueinander inverse Signale. Dieser Befund

spricht dafür, daß nicht, ähnlich wie bei den Insekten, überwiegend reine Rezeptorsignale, sondern erste Stufen einer retinalen Verarbeitung elektrophysiologisch abgeleitet werden.

Eine weiterführende Diskussion der Humanergebnisse (z. B. linear wirksame Komponente = Stäbchenreaktion?; nichtlineare Komponenten = Zapfenreaktionen?; 180° -Phasenverschiebung = Gegenfarben-Mechanismen?) soll an dieser Stelle nicht erfolgen. Sie kann nur im Rahmen einer weiteren Arbeit stattfinden, in der schon vorhandene und neu ermittelte FIS-Ergebnisse der Human-Untersuchungen einer ähnlichen Analyse von Nichtlinearität und Phase unterzogen werden, wie sie in diesem Kapitel beispielhaft beschrieben wurde.

6.10 Zusammenfassung: FIS-Untersuchungen an biologischen Objekten

Basierend auf den früher erarbeiteten Grundlagen wurden im Abschnitt 6 FIS-Untersuchungen am biologischen Sehsystem beschrieben.

In ihrer Hauptanwendung dient die FIS-Methode zur aktionsspektrometrischen Bestimmung der spektralen Empfindlichkeit (SE) von Photorezeptoren. Dazu wird deren elektrische Reaktion auf einen komplexen Sinusreiz (Interferogramm-Stimulus) ermittelt und fourieranalytisch untersucht. Dieser Methode liegt eine andere Meßtechnik zur Bestimmung der SE zugrunde als herkömmlichen elektro-physiologischen Verfahren. Besonders Schwankungen in den Systemübertragungseigenschaften, die vor allem bei intrazellulären Ableitungen auftreten können, wirken sich nur indirekt auf das FIS-Ergebnis aus. Im Falle der Rechteckreizung dagegen erzeugt eine Kennlinienänderung, die direkt und über einen exponentiellen Zusammenhang in die SE-Berechnung eingeht, im allgemeinen ein unbrauchbares Resultat.

Neben der großen Stabilität gegenüber Störungen im Übertragungsverhalten zeigt FIS auch die methodischen Vorteile der Fourierspektroskopie. Gleichzeitig ist die Methode aufgrund der Reizform (Modulationen um ein mittleres, konstantes Niveau) besonders für adaptierende Systeme geeignet. Insgesamt ergeben sich daraus eine ausgezeichnete Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der FIS-Ergebnisse.

Dies zeigen die aus ERG-Ableitungen ermittelten Spektralkurven der Schmetterlinge *Aglais urticae* und *Pararge aegeria*. Unter der Annahme, daß in den Rezeptorstrukturen Rhodopsine als Photopigmente vorliegen, können die Fourier-analytisch ermittelten Empfindlichkeiten gut durch die Superposition einzelner Rhodopsine mit verschiedenen Maximalwellenlängen genähert werden. Mittels chromatischer Adaptation läßt sich gleichzeitig die selektive Adaptierbarkeit dieser Einzelpigmente nachweisen. Die Übereinstimmung zwischen der synthetischen Näherung und der mit FIS ermittelten SE ist im allgemeinen so gut, daß spektral modifizierende Effekte, wie z. B. Metarhodopsin-Abschirmung oder Lichtleitereigenschaften der Rezep-

torstruktur nur eine untergeordnete Rolle spielen können. Eventuell ist dies in der spezifischen Art des FIS-Reizes begründet. Das wurde anhand verschiedener Mechanismen und Modellvorstellungen dargestellt.

Die ERG-Untersuchungen des Schmetterlings *Pieris brassicae* ergeben eine komplexe SE, die neben der Ableittiefe auch von der Augenregion abhängig ist. Aufgrund der Simulation mit Einzelpigmenten und Experimenten mit chromatischer Adaptation ist es wahrscheinlich, daß im dorsalen Augenbereich drei rhodopsinähnliche Sehpigmente vorliegen. In der ventralen Region kommt zusätzlich noch ein Rotanteil dazu, dessen Absorptionskurve eventuell durch die Kombination eines rotdurchlässigen Filterpigments und eines Rhodopsins erklärbar ist. Diese Annahme wird auch durch die histologischen Befunde anderer Autoren gestützt.

Die Tiefenabhängigkeit ist ebenfalls mit histologischen Strukturen korrelierbar. Sie kann durch elektrische und optische Eigenschaften der Rezeptoren gedeutet werden.

Die aufgrund der FIS-Experimente vermuteten Einzelrezeptoren bei P.b. sind mit den Befunden von Verhaltensexperimenten korrelierbar. Danach wäre es möglich, daß beim Kohlweißling einzelne Rezeptoren ohne Farbverarbeitung im Sinne einer gegenseitigen Verrechnung eine Reaktion direkt beeinflussen. Andererseits deuten die Verhaltensversuche auf eine hohe Farbauflösung hin, die nur durch eine Verschaltung verschiedener Rezeptoren erklärt werden kann.

Die FIS-Methode liefert neben der SE noch zwei weitere Informationen, die nichtlineare Amplitudenreaktion und den Phasen-Frequenzgang. Diese können gemäß der zu Beginn durchgeführten methodischen Modelluntersuchungen nun ebenfalls ausgewertet und zur Systemanalyse eingesetzt werden. Dabei ist es möglich, die nichtlineare Amplituden- und Phasenreaktion zur Ermittlung der Anzahl der nichtlinearen Untersysteme anzuwenden. Auf diese Weise kann die ERG-Summenantwort in die Einzelreaktionen der spektral verschiedenen Sehzellen zerlegt werden. Im Falle der Schmetterlinge P.b. und P.a. bestätigt die nichtlineare Analyse zweifelsfrei die Rezeptorstrukturen, die aufgrund der Näherungen der Spektralkurven und den

Farbadaptations-Experimenten vermutet wurden.

Die Auswertung der linearen Phasenreaktion erweist sich bei *Calliphora erythrocephala* als besonders effektiv. Hier zeigt die UV-Reaktion eine Zeitverzögerung und Feinstruktur, die mit der gängigen Satelliten-Pigment-Hypothese nicht erklärt wird. Die Annahme einer schnellen Energie-Übertragung vom Antennen- zum Hauptpigment muß aufgrund der Phasenauswertung des FIS-Resultats in Frage gestellt werden.

Die qualitative Auswertung von Nichtlinearität und Phase bei Human-Experimenten (ERG-Ableitung vom Augapfel) bringt vielfältige Informationen. Sowohl die lineare Phasenantwort als auch die nichtlinearen Amplituden- und Phasen-Reaktionen deuten darauf hin, daß hier erste Stufen einer gegenseitigen Verschaltung der Rezeptoren elektrophysiologisch erfaßt werden.

7. Nachwort

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Ende 1979 bis Anfang 1984 unter der Leitung von Herrn Dr. Roland Gemperlein am Zoologischen Institut der Universität München erstellt. Die ersten zwei Jahre dienten hauptsächlich zur Einarbeitung in das für mich fachfremde Gebiet der Biologie. Daneben wurden vor allem Entwicklungsaufgaben für die FIS-Apparatur durchgeführt.

Von der anfänglichen Intention her sollte sich diese Arbeit mit der Möglichkeit beschäftigen, ein komplexes Rezeptorsystem aufgrund von ERG-Messungen zu analysieren. Eine solche Analyse erschien wegen der Güte, die den mit FIS ermittelten Spektralkurven zu eigen ist, durchführbar. Diese Güte ist vor allem durch das differentielle Meßverfahren und dem damit verbundenen linearen Reiz-Antwort-Zusammenhang gegeben. Die lineare Beziehung erschien jedoch aufgrund der hohen Antwort-Verzerrungen besonders bei Humanuntersuchungen zweifelhaft. Es stellte sich somit zwangsläufig die Frage, ob und inwieweit die Fourier-Zerlegung als lineares Analyseverfahren auf eine nichtlineare Reaktion angewendet werden durfte. Diese Problematik erforderte eine intensive Beschäftigung mit den von FIS gelieferten Rohdaten in Form von Modellberechnungen und Grundlagenforschung. Dadurch war es möglich, die Grenzen der FIS-Methode abzustecken und gleichzeitig den Verlauf von Nichtlinearität und Phase zu verstehen.

Durch dieses Verständnis ergaben sich schlagartig aus den schon vorhandenen Messungen zusätzliche, biologisch relevante Ergebnisse. Sie führten, obwohl nur an Beispielen dargestellt, zu einer Ausweitung der vorliegenden Arbeit, zumal es mir sinnvoll und notwendig erschien, die Grundlagenuntersuchungen mit einfachen und komplexen Sinusreizen ebenfalls vorzustellen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden an verschiedenen Stellen um einige spekulative Überlegungen ergänzt. Sie sollen diejenigen Punkte aufzeigen, an denen ich eine Weiterführung der Experimente für nützlich halte und mir weitere interessante Resultate erhoffe.

Zur vorliegenden Arbeit haben viele Diskussionen in unserer Arbeitsgruppe beigetragen, bei denen ich immer wieder wertvolle Denkanstöße erhielt.

Deshalb möchte ich ganz herzlich Herrn Dr. R. Gemperlein Dank sagen, der als Mensch und Wissenschaftler mir eine angenehme Zusammenarbeit ermöglichte. Er brachte meinen Untersuchungen jederzeit großes Interesse und Verständnis entgegen und gab mir viele Anregungen.

Mein besonderer Dank gilt auch meinem Freund und Kollegen Dr. R. Paul. Unsere langen, ausführlichen und engagierten Gespräche brachten oft neue Erkenntnisse, die zur Durchführung dieser Arbeit hilfreich waren.

Weiterhin möchte ich Frau L. Vogl und Frau A. Helmrich für ihre ständige Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Experimente und der Anfertigung von Zeichnungen danken.

Die hier vorgestellten Untersuchungen wurden durch Mittel der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft ermöglicht, die Herrn Dr. R. Gemperlein zur Verfügung standen (Ge 379/1,3,4-3).

8. Literaturverzeichnis

- Adamczyk, R.: Measurement of spectral sensitivities of man by Fourier interferometric stimulation compared with other methods of determining spectral deficiencies, Wissensch. Ausstellung, 6th European Conference on Visual Perception, Lucca, 1983.
- Adamczyk R., Gemperlein, R., Paul, R., Steiner, A.: Objektive elektrophysiologische Bestimmung der skotopischen und photopischen spektralen Empfindlichkeiten des menschlichen Auges mit Hilfe Fourierinterferometrischer Stimulation (FIS), Fortschr. Ophthalmol. 80, 1983, 488-491.
- Autrum, H., Burkhardt, D.: Die spektrale Empfindlichkeit einzelner Sehzellen, Naturwiss. 47, 1960, 527.
- Autrum, H., Zwehl, V. v.: Die spektrale Empfindlichkeit einzelner Sehzellen des Bienenauges, Z. vergl. Physiol. 48, 1964, 357-384.
- Autrum H., Autrum I., Hoffmann C.: Komponenten im Retinogramm von Calliphora und ihre Abhängigkeit von der Spektralfarbe, Biologisches Zentralblatt, 5, Thieme Verlag, Leipzig, Band 80, 1961, 513-547.
- Barlow, H.B., Gemperlein, R., Paul, R., Steiner, A.: Human contrast sensitivity for comb-filtered spectra, Proceeding of the Physiological society, 1983.
- Baumann, F.: Slow and spike potentials recorded from retinula cells of the honey bee drone in response to light, J. gen. Physiol. 52, 1968, 855-875.
- Baylor, D.A., Fuortes, M.G.F.: Electrical responses of single cones in the retina of the turtle, J. Physiol. (London) 207, 1970, 77.
- Bernard, G.D.: Red-Absorbing Visual Pigment of Butterflies, Science Vol. 203, 1979, 1125-1127.
- Bernhard, C.G., Miller, W., Møller, A.R.: A biological broadband impedance transformer that acts as an antireflexion coating, Acta physiol. scand. 63, 1965, 243.

- Blakemore, C.B., Rushton, W.A.H.: Dark adaption and increment threshold in a rod monochromat, *J. Physiol.* 181, 1965, 612-628.
- Bronstein-Semendjajew, X.: Taschenbuch der Mathematik, Staatlicher Verlag für technisch-theoretische Literatur, Moskau, 1956.
- Bowmaker, I.K., Knowles, A.: The visual pigments and oil droplets of the chicken retina, *Vision Res.* 17, 1977, 755-764.
- Burkhardt, D.: Spectral sensitivity and other response characteristics of single visual cells in the arthropod eye, *Symp. Soc. exp. Biol.* 16, 1962, 86-109.
- Dartnall, H.J.A.: The Interpretation of Spectral Sensitivity Curves, *Brit. med. Bull.* 9, 1953, 24-30.
- Dörrscheidt-Käfer, M.: Die Empfindlichkeit einzelner Photorezeptoren im Komplexauge von *Calliphora erythrocephala*, *J. comp. Physiol.* 81, Springer Verlag, 1972, 309-340.
- Dowling, J.E., Ripps, H.: S-Potentials in the Skate Retina, *J. gen. Physiol.* 58/2, 1971, 163-189.
- Ebrey, T.G., Honig, B.: New Wavelength Dependent Visual Pigment Nomograms, *Vision Research Vol.* 17, 1977, 147-151.
- Eguchi, E., Watanabe, K., Hariyama, T., Yamamoto, K.: A comparison of electrophysiologically determined spectral responses in 35 species of lepidoptera, *J. Insect Physiol.* Vol. 28, No. 8, 1982, 675-682.
- Eguchi, E., Horikoshi, T.: Comparison of stimulus-response ($V\text{-log } I$) functions in five types of lepidopteran compound eyes (46 species), *J. comp. Physiol.* 154, 1984.
- Elektor, 2: Spielen mit Licht, elektor-Verlag, Gangel, 1983a, 60-65.
- Elektor, 3: LCD Luxmeter, elektor-Verlag, Gangel, 1983, 3-34.
- Emeis, D., Kühn, H., Reichert, J., Hofmann, K.P.: Complex formation between metarhodopsin II and GTP-binding protein in bovine photoreceptor membranes leads to a shift of the photoproduct equilibrium, *FEBS Letters* No. 1, Vol. 143, 1982, 29-34.
- Fricke, J.: Skript zur Vorlesung Physik und Umwelt, (Hrsgb.: J. Fricke), Kapitel 11-13, Universität Würzburg, 1977.

- Franceschini, N.: Voltage-clamps by light: rapid measurement of the spectral and polarization sensitivities of receptor cells, Annual meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, Sarasota, Fla., 1979.
- Fritz, N.: Die Abhängigkeit des linearen Übertragungsverhaltens der Sehzellen der Schmeißfliege vom Ruhepotential: Gemessen mit einfachen und komplexen Sinusreizen, Diplomarbeit an der Universität München, 1977.
- Garms, H.: Fauna Europas, dtv-Verlag, München, 1982.
- Gemperlein, R.: Fourier Interferometric Stimulation (FIS). A New Method for the Analysis of Spectral Processing in Visual Systems, MEDINFO 80, Proceedings of the Third World Conference on Medical Informatics, Tokyo, 1980, 372-376.
- Gemperlein, R.: Fourier Interferometric Stimulation (FIS). A new method for the study of spectral characteristics in visual systems, Docum. Ophthal. Proc. Series, Vol. 33, 1982a, 265-267.
- Gemperlein, R.: The Determination of Spectral Sensitivities by Fourier Interferometric Stimulation (FIS). The Basic Principles and Advantages, Doc. Ophthalmol. Proc. Series, Vol 31, 1982, 23-29.
- Gemperlein, R., Adamczyk, R.: Bestimmung spektraler Empfindlichkeiten des visuellen Systems durch Fourier interferometrische Reizung (FIS), Automation und neuere Technologie in der Ophthalmologie, Enke Verlag, Stuttgart, 1982.
- Gemperlein, R., Smola, U.: Übertragungseigenschaften der Sehzelle der Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala*, 1. Abhängigkeit vom Ruhepotential, J. comp. Physiol. 78, 1972a, 30-52.
- Gemperlein, R., Smola, U.: Übertragungseigenschaften der Sehzelle der Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala*, 3. Verbesserung des Signal-Störungs-Verhältnisses durch präsynaptische Summation in der Lamina ganglionaris, J. comp. Physiol. 79, 1972c, 393-409.
- Gemperlein, R., McCann, G.D.: A study of the Response Properties of Retinula Cells of Flies Using Nonlinear Identification Theory, Biol. Cybernetics 19, 1975, 147-158.

- Gemperlein R., Adamczyk, R., Paul, R., Steiner, A.: Die Vorteile Fourierinterferometrischer Stimulation (FIS) bei der Bestimmung spektraler Empfindlichkeiten des menschlichen Auges, Fortschr. Ophthalmol. Vol. 80, 1983, 492-495.
- Gemperlein, R., Paul, R., Steiner, A.: A Michelson-Interferometer for the Visible and UV, designed as a light modulator for biological and medical experiments, J. biochem. and biophys. methods, Amsterdam, 1984, eingereicht zur Veröffentlichung.
- Greenberg, A.D., Honig, B.: Wavelength dependence of the bandwidth of visual pigment spectra, Nature Vol. 257, 1975, 823-824.
- Hamdorf, K.: Vision in Invertebrates, Handbook of Sens. Physiol., VII/6A, Springer Verlag, 1979, 146-224.
- Hamdorf, K., Schwemer, J., Gogala, M.: Insect visual pigment sensitive to ultraviolet light, Nature (Lond.) 231, 1971, 458-459.
- Hamdorf, K., Kirschfeld, K.: "Prebumps": Evidence for Double-Hits at Functional Subunits in a Rhabdomeric Photoreceptor, Z. Naturforsch. 35c, 1980, 173-174.
- Hirschmann, D.: Einführung in die Operationsverstärker-Technik, RPB 64, und Operationsverstärker-Anwendung, RPB 65, Francis Verlag München, 1978.
- Hoffmann, Chr., Langer, H.: Die spektrale Augenempfindlichkeit der Mutante "chalky" von *Calliphora erythrocephala*, Naturwiss. 18, 1961, 605-607.
- Hoppe W., Lahmann, W., Markl, H., Ziegler, H.: Biophysik, Springer-Verlag, Berlin, 1982.
- Horridge G.A., Mimura, K.: Fly photoreceptors I. Physical separation of two visual pigments in *Calliphora* retinula cells 1-6, Proc. Roy. Soc. 190, 1975, 211-224.
- Horridge, G.A., Marcelja, L., Jahnke, R., Matic, T.: Single electrode studies of the retina on the butterfly *Papilio*, J. comp. Physiol. 150, 1983, 271-294.
- Ilse, D.: Über den Farbsinn der Tagfalter, Z. vergl. Physiol. 8, 1928, 658-692.
- Ilse, D.: New observations on responses to colours in egg-laying butterflies, Nature 140, 1937, 544-545.

- Kabiersch, A.: Spektral- und Polarisationsempfindlichkeit identifizierter Sehzellen der Fliege *Calliphora erythrocephala*, Dissertation der Fakultät für Biologie der Ludwig-Maximilians-Universität, München, 1980.
- Kirschfeld, K.: The Function of Photostable Pigments in Fly Photoreceptors, *Biophys. Struct. Mechanism*, 5, 1979, 117-128.
- Kirschfeld, K., Franceschini N., Minke B.: Evidence for a sensitizing pigment in fly photoreceptors, *Nature*, 269, 1977, 386-390.
- Kirschfeld, K., Feiler R., Franceschini, N.: A photostable pigment within the rhabdomere of fly photoreceptors, *J. comp. Physiol.* 125, 1978, 275-284.
- Kirschfeld, K., Feiler, R., Hardie, R., Vogt, K., Franceschini, N.: The Sensitizing Pigment in Fly Photoreceptors, *Biophys. Struct. Mech.* 10, 1983, 81-92.
- Kolb, G.: The Structure of the Eye of *Pieris brassicae* L. (*Lepidoptera*), *Zoomorphologie* 87, 1977, 123-146.
- Kolb, G.: Zur Rhabdomerenstruktur des Auges von *Pieris brassicae* L. (*Insecta, Lepidoptera*), *Zoomorphol.* 91, 1978, 191-200.
- Kolb, G., Scherer, Ch.: Experiments on Wavelength Specific Behaviour of *Pieris brassicae* L. During Drumming and Egg-Laying, *J. comp. Physiol.* 149, 1982, 325-332.
- Kolb, G., Schwarz, G.: Hell- und Dunkeladaptation der Augen von *Pieris brassicae* L. (*Lepidoptera*), *Zoomorphol.* 94, 1980, 265-278.
- Kolb, G., Scholz, W.: Ultraviolet Reflections and Sexual Dimorphism among Butterflies, Vortrag auf dem II. Europäischen Entomologen-Kongreß, Universität Kiel, 1982.
- Kuiper, J.W., Leutscher-Hazelhoff, J.T.: Linear and nonlinear responses from the compound eye of *Calliphora erythrocephala*, *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* 30, 1965, 419-428.
- Kuo, A.: Elektrophysiologische Untersuchungen zur Spektral- und Polarisationsempfindlichkeit an den Sehzellen von *Calliphora erythrocephala*, Dissertation an der Universität München, 1979.
- Lampert, K.: Die Großschmetterlinge und Raupen Mitteleuropas, F. Schreiber Verlag, Eßlingen, 1907.

- Langer, H.: Nachweis dichroitischer Absorption des Sehfarbstoffes in den Rhabdomeren des Insektenauges, Z. vergl. Physiol., 51, 1965, 258-263.
- Langer, H.: Sehfarbstoffe von Nachtschmetterlingen und ihre Lokalisation im Rhabdom, Seminarvortrag, Zoologisches Institut der Universität München, Dez. 1982.
- Langer, H., Thorell, B.: Microspectrophotometry of single rhabdomeres in the insect eye, Exp. Cell. Res. 41, 1966, 673-677.
- Leutscher-Hazelhoff, J.T.: Photoreceptor Performance in the Blowfly, Dissertation, Rijksuniversiteit te Groningen, 1973.
- Leutscher-Hazelhoff, J.T.: Linear and Non-Linear Performance of Transducer and Pupil in Calliphora Retinula Cells, J. Physiol. 246, 1975, 333-350.
- Löwenstein, E.V.: Fourier Spectroscopy: An Introduction, Aspen Int. Conf. on Fourier Spectroscopy, 1970, 3-17, AFCRL-71-0019.
- Matic, T.: Electrical inhibition in the retina of the butterfly Papilio, J. comp. Physiol., 1983.
- Meffert, P.: Lokalisierte intrazelluläre Messungen zur Spektral- und Polarisationsempfindlichkeit aus den zentralen Sehzellen der Fliege Calliphora erythrocephala, Dissertation an der Universität München, 1977.
- Miller, W., Bernard, G.D., Allen, J.: The optics of insect compound eyes, Science 162, 1968, 760-767.
- Minke, B., Kirschfeld, K.: The contributing of a sensitizing pigment to the photosensitivity spectra of fly rhodopsin and metarhodopsin, J. gen. Physiol. 73, 1979, 517-540.
- Naka, K., Rushton, W.A.H.: An attempt to analyse colour reception by electrophysiology, J. Physiol. 185, 1966, 556-586.
- Naka, K., Rushton, W.A.H.: S-Potentials from colour units in the retina of fish (Cyprinidae), J. Physiol. 185, 1966a, 536-555.
- Naka, K., Rushton, W.A.H.: S-Potentials from luminosity units in the retina of fish (Cyprinidae), J. Physiol. 185, 1966b, 587-599.
- Obara, Y.: Studies on the Mating Behaviour of the White Cabbage Butterfly, Pieris rapae crucivora Boisduval, Z. vergl. Physiol. 69, 1970, 99-116.

- Paul, R.: Neue Aspekte der spektralen Empfindlichkeit von *Calliphora erythrocephala* gewonnen durch Fourierinterferometrische Stimulation (FIS), Dissertation an der Universität München, 1981.
- Paul, R.: Fourier interferometric measurement of the scotopic and photopic spectral sensitivity of humans, Vortrag, 6th European Conference on Visual Perception, Lucca, 1983.
- Paul, R., Steiner, A., Gemperlein, R.: Spectral sensitivities of *Calliphora erythrocephala* and other insects measured with FIS, fertiggestellt zur Veröffentlichung in J. comp. Physiol., 1984.
- Payne, R., Howard, J.: Response of an insect photoreceptor: A simple log-normal model, Nature, Vol. 290, 1981, 415-416.
- Prehn, H.: Untersuchungen Spektraler Mechanismen Aufgrund der Aktionsspektren von Retinaneuronen nach der Methode Der Strahlungssubstitution, Inauguraldissertation, Justus-Liebig Universität, Gießen, 1978.
- Ribi, W.A.: Ultrastructure and Migration of Screening Pigments in the Retina of *Pieris rapae* L. (Lepidoptera, Pieridae), Cell Tissue Research 191, 1978, 57-73.
- Ribi, W.A.: Coloured Screening Pigments Cause Red Eye Glow Hue in Pierid Butterflies, J. comp. Physiol. 132, 1979, 1-9.
- Ribi, W.A.: The phenomenon of eye glow, Endeavour, New Series, Vol. 5, No. 1, 1981.
- Rosner, G.: Adaptation und Photoregeneration im Fliegenauge, J. comp. Physiol. 102, 1975, 269-295.
- Rückel, A.L.: Messung der Intensität von Lichtsignalen aus der Umwelt von Lebewesen, Zulassungsarbeit in der Zoologie, Universität München, 1975.
- Rushton, W.A.H.: Visual Pigments in Man, Handbook of sensory physiology, Vol. VII/1, Springer, 1972, 364-394.
- Sakai, H.: Consideration of the Signal-to-Noise Ratio in Fourier Spectroscopy, Aspen Int. Conference on Fourier Spectroscopy, 1970, 19-35, AFCRL-71-0019.
- Sauer, F.: Raupe und Schmetterling, Fauna-Verlag, Karlsfeld, 1982.
- Sirk, H., Dräger, M.: Mathematik für Naturwissenschaftler, Steinkopff Verlag, Darmstadt, 1972.

- Smola, U., Gemperlein, R.: Übertragungseigenschaften der Sehzelle der Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala*, 2. Die Abhängigkeit vom Ableitort: Retina - Lamina ganglionaris, J.comp. Physiol. 78, 1972b, 363-392.
- Snyder, A., Menzel, R.: Photoreceptor Optics, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1975.
- Starkemann, R.: Die harmonische Linearisierung, B.I. Hochschultaschenbücher, Mannheim, 1970.
- Steiner, A.: Fourierinterferometrische Messung der spektralen Empfindlichkeit von zwei Schmetterlingsarten (*Pieris brassicae* und *Aglaia urticae*), wissenschaftl. Ausstellung, Neurobiologentagung, Göttingen, 1982.
- Trendelenburg, W., Schütz, E.: Lehrbuch der Physiologie, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1961.
- Varju, D.: Systemtheorie, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1977.
- Victor, J.D., Shapley, R.M., Knight, B.W.: Nonlinear analysis of cat retinal ganglion cells in the frequency domain, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.74, No.7, 1977, 3068-3072.
- Zettler, F.: Die Abhängigkeit des Übertragungsverhaltens von Frequenz und Adaptationszustand, gemessen am einzelnen Lichtrezeptor von *Calliphora erythrocephala*, Z. vergl. Physiol. 64, 1969, 432-449.
- Zettler, F., Järvilehto, M.: Histologische Lokalisation der Ableitelektroden aus Retina und Lamina bei *Calliphora*, Z. vergl. Physiol. 68, 1970, 202-210.

9. Anhang: Legende der wichtigsten Abkürzungen und Bezeichnungen

a: (Relative) Amplitude
A.u.: *Aglaia urticae* (kleiner Fuchs)
C.e.: *Calliphora erythrocephala* (Schmeißfliege)
C.e.C.: *Calliphora erythrocephala*, Mutante "Chalky"
f: Frequenz(index)
FIS: Fourier Interferometrische Stimulation
FFT: Fast Fourier Transformation
FSP: Fourierspektroskopie
F: Optischer Gangunterschied im Michelson-Interferometer
I : Elektrischer Strom
K_{rec}: Mit Rechteckreizen ermittelte Intensitätsabhängigkeit
eines Systems = "Rechteckkennlinie"
K_{mod}: Mit sinusförmigen Modulationsreizen ermittelte Intensitätsabhängigkeit eines Systems = "Modulationskennlinie"
L: Im Reizfrequenzband liegende lineare Antwort
 λ : Wellenlänge
m: Modulationsgrad
M: Modulationsgröße
NLH: Über dem Reizfrequenzband liegende Antwortnichtlinearitäten
NLS: Unter dem Reizfrequenzband liegende Antwortnichtlinearitäten
OP: Operationsverstärker
P.a.: *Pararge aegeria* (Waldbrettspiel)
P.b.: *Pieris brassicae* (Kohlweißling)
Q: Reizintensität
q: Phase
SE: Spektrale Empfindlichkeit
sp: Satellitenpigment, "sensitizing pigment"
U: Elektrischer Spannung
V: Elektrisches Antwortpotential
X,R: Elektrischer Widerstand
x: (relativer) Reiz
y: (relative) Antwort
z: Logarithmische Reizgröße

Lebenslauf

von Andreas Steiner

01. Januar 1953	Geburt in Sonneberg/Thüringen
September 1959	Einschulung in die Grundschule in Neustadt/Coburg
September 1963	Übertritt in das Arnold-Gymnasium in Neustadt/Coburg
Juni 1972	Abitur
Juli 1972 - September 1973	Zivildienst in Neustadt/Coburg
Oktober 1973	Beginn des Studiums der Physik an der Universität Würzburg
Oktober 1978	Beginn des Studiums der Biologie an der Universität Würzburg
März 1979	Abschluß des Studiums der Physik mit der Diplom-Prüfung an der Universität Würzburg
November 1979	Weiterführung des Studiums der Bio- logie an der Ludwig-Maximilians-Uni- versität München (Promotionsstudium)
	Seit Oktober 1979 wissenschaftlicher Mitarbeiter bei Dr. R. Gemperlein am Zoologischen Institut der Universität München
	Seit Januar 1984 wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Universitäts- Augenklinik München

